

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05

C E

~~ser T~~ v. 71

BOTANY

DEPARTMENT

BIOLOGY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 71. Band

Originale

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. F. Loeffler
Geh. Med.-Rat in Greifswald

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 71. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 16 Tafeln und 55 Abbildungen im Text



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1913

2 H W

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 71. Heft 1.

Ausgegeben am 27. September 1913.

*Nachdruck verboten.***Ueber die Mutation bei Bakterien und die Technik zum Nachweis dieser Abspaltungsvorgänge.**

[Aus der Bakteriolog. Abteilung des Kaiserl. Gesundheitsamtes.]

Von Dr. med. **Baerthlein**, Kgl. Bayer. Oberarzt,
kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamt.

In einigen in letzter Zeit erschienenen Mitteilungen, welche sich mit verschiedenartigen, bei den Bakterien zu beobachtenden Veränderungen befassen, sind nach den dabei gegebenen Schilderungen anscheinend Abspaltungsvorgänge, die den von mir beschriebenen und als Mutation aufgefaßten Erscheinungen entsprechen, gleichgestellt oder doch nicht scharf abgetrennt worden von anderen Formen der Veränderlichkeit bei Bakterien, die als Erscheinungen der Modifikation, bzw. als degenerative Prozesse zu deuten sind. Eine solche Gleichstellung findet sich namentlich in der in Band 68 Heft 2 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit von Czernel (1). Es sei mir deshalb gestattet, an dieser Stelle die Technik, wie ich sie bei der Untersuchung der von mir als Mutation gedeuteten Abspaltungsvorgänge angewendet habe, kurz zu beschreiben und dabei auch im allgemeinen die Frage der Mutation bei Bakterien überhaupt kurz zu erörtern. Ich glaube, daß man bei einem gleichartigen Vorgehen zum Nachweis der in Frage stehenden Erscheinungen am ehesten zu einer einheitlichen Beurteilung und Bezeichnung der verschiedenen bei den Bakterien zu beobachtenden Veränderungen kommen wird.

Allgemeines über Mutation.

Die gesamten Veränderungen organisierter Lebewesen werden auf Grund der Darstellung der älteren und jüngeren Forschung in der Botanik, z. B. der Arbeiten von de Vries (2), Standfuss (3), Bauer (4), Johannsen (5), Beijerinck (6), jetzt allgemein als „Variation“ zusammengefaßt. Die Erscheinungen der Variation zerfallen bei den Bakterien, wenn wir uns der sehr zweckmäßigen Nomenklatur von Bauer, Schinz u. a. bedienen, in 2 weitere Untergruppen, nämlich in die „Modifikation“ und in die „Mutation“, da die Gruppe der sogenannten „Kombinationen“ oder „Variationen durch Neukombination“, d. h. die Bastardbildung, die bei den Organismen mit geschlechtlicher Fortpflanzung eine große Rolle spielt, bei den Bakterien infolge der asexuellen Vermehrung in Wegfall kommt. Der Modifikation nach Bauer entspricht somit der von anderen Autoren aufgestellte Begriff der sog. „individuellen Variabilität“, der „fluktuierenden, graduellen Variabilität“ oder der „Variation im engeren Sinne“, Erscheinungen, die bei den Arbeiten mit Bakterien im Laboratorium täglich namentlich in der Form der sog. Anpassungsvorgänge an andere Lebensbedingungen zu beobachten sind. So finden wir z. B. beim Wechsel der Nährmedien oder im Laufe der Weiterzüchtung auf demselben Nährsubstrat bald ein stärkeres, bald ein recht geringes Wachstum, Schwankungen in der Größe und im Aussehen der Kolonien und bei den diese zuse-

Erste Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 1.

1

259264

12 H 2
setzenden Bakterien; man beobachtet ferner gelegentlich an ein und derselben Kultur bei der Weiterzüchtung und mehrfachen Ueberprüfung geringe Differenzen im sonstigen kulturellen Verhalten, z. B. hinsichtlich der Intensität der Reaktion gegenüber verschiedenen Zuckerarten, oder insbesondere auch häufig Schwankungen in der Agglutinabilität. Alle diese als Modifikation anzusprechenden Veränderungen sind nicht erblich konstant, sondern vorübergehender Natur und verschwinden rasch wieder, sobald jeweils die auslösende Ursache, wie z. B. die besondere Art der Ernährungsverhältnisse, Temperatur, Salzgehalt des Nährmediums, chemische Substanzen, wieder in Wegfall kommt. Die modifizierten Bakterien können beträchtliche Abweichungen vom Mittel des Typus der betreffenden Art zeigen, weisen jedoch nie die Entstehung neuer konstanter Merkmale auf. Bei den Bakterien stellen die Modifikationsvorgänge, wie erwähnt, angesichts der leichten Beeinflussbarkeit und der großen Labilität dieser Organismen eine häufige Erscheinung dar.

Die Mutation ist dagegen seltener anzutreffen, obwohl sie, wie ich in verschiedenen Arbeiten zeigen konnte, bei allen Bakterienarten unter gewissen Bedingungen ganz gesetzmäßig ausgelöst wird. Sie ist charakterisiert durch ihr plötzliches, sprunghaftes Auftreten — deshalb verschiedentlich auch „Sprungvariation“ genannt — und durch die erbliche Konstanz der neuen Eigenschaften. Dabei bilden die neu entstandenen Mutationsformen nur einen ganz geringen Bruchteil von den auf einem Nährboden vorhandenen Kolonien.

Diese neuen Eigenschaften werden jedoch beim Auftreten jener Abspaltungsvorgänge nicht vollständig neu erworben, also gewissermaßen von außen her in den Organismus hineingetragen, es handelt sich vielmehr bei den Vorgängen der Mutation entweder um ein Sichtbarwerden von bereits in der Zelle schlummernden Eigenschaften, oder umgekehrt um ein Verschwinden oder besser um ein Latentwerden von vorhandenen Eigenschaften der Zelle. Nach Bauer, Beijerinck u. a. zerfällt nämlich die Gesamtsumme der erblichen Eigenschaften einer Zelle in zwei Gruppen von sogenannten Erbeinheiten oder Genen, die man sich als Teile des Protoplasmas oder des Zellkerns vorstellen kann, nämlich in die sichtbaren Eigenschaften oder aktiven Genen und in die schlummernden, nur als Anlage vorhandenen Erbeinheiten oder Progenen, die eben durch die Mutation in aktive sichtbare Genen verwandelt werden. Als solche Erbeinheiten kommen bei den Mikroorganismen u. a. in Betracht z. B. Farbstoffbildung, Gärungsvermögen gegenüber Zuckerarten, peptonisierende Eigenschaften, Toxin- und Agglutininbildung.

Was die Ursachen der Mutation bzw. die solche Vorgänge auslösenden Bedingungen betrifft, so müssen sie im allgemeinen, um den Anstoß zu derartig tiefgehenden Veränderungen der Bakterien zu geben, ziemlich eingreifender Natur sein. Doch können auch hier äußere Reize, z. B. chemische oder thermische Einflüsse verschiedenster Art, in Betracht kommen. Eine bedeutungsvolle Rolle, auf die später noch näher eingegangen werden soll, spielt ferner der tierische Organismus.

Meine Untersuchungen (17, 18, 19, 20) befaßten sich zunächst mit den Mutationsvorgängen, die nach Ueberimpfung von Bakterien auf den gewöhnlichen, normalen Nährboden zur Beobachtung kommen, und die halb auch für die praktische bakteriologische Diagnose besonderer Wichtigkeit sind. Diese Abspaltungen treten in der Regel bei einem plötzlichen Wechsel der Ernährungsverhältnisse, unmittelbar vorher unter schlechten Existenzverhältnissen ge-

haltenen Bakterien unter günstige neue Lebensbedingungen gebracht werden, welche ihnen die Möglichkeit zu reicher Entwicklung und Vermehrung geben. Auf dem neuen Nährboden finden sich dann verschiedene voneinander gut unterscheidbare Bakterientypen, die ausgesprochen differente Kolonien bilden, von denen die einzelnen Mutationsstämme dann isoliert werden können. In den alten als Ausgangsmaterial dienenden Kulturen lassen sich bei der mikroskopischen Untersuchung nur Involutions- und Degenerationsformen nachweisen, niemals Bakterienformen, welche etwa den Bakterientypen entsprechen würden, wie sie auf dem neuen Nährboden infolge der Mutation auftreten.

In gewisser Hinsicht sind diesen Mutationsvorgängen die sog. Knopfmutationen gleichzusetzen; es handelt sich dabei um Erscheinungen, wie sie z. B. bei *Bact. coli mutabile* und Diphtherie beobachtet werden. Dagegen ist es noch nicht geklärt, ob die bei verschiedenen anderen Bakterienarten, z. B. bei den giftarmen Ruhrstämmen, bei Milzbrand, Cholera u. a. auch schon auf der Agarplatte gelegentlich auftretenden, ebenfalls den Mutterkolonien knopfartig aufsitzenden Sekundärvegetationen in der überwiegenden Mehrzahl auch unter den Begriff der Mutation fallen, da die bei der Abimpfung von den Tochterkolonien erhaltenen Stämme in diesen Fällen gegenüber den Ausgangsformen nach den bisherigen Untersuchungen keine neuen Eigenschaften aufweisen. Bei *Bact. coli mutabile* und Diphtherie dagegen handelt es sich beim Auftreten solcher Sekundärkolonien um echte Mutationsvorgänge, weil die durch die Weiterzüchtung von den Tochterkolonien gewonnenen neuen Stämme sich durch charakteristische neue Eigenschaften, z. B. bei *Bact. coli mutabile* durch Laktosevergärung, bei Diphtherie durch ihr morphologisches und biologisches Verhalten von den Mutterkolonien unterscheiden. Bei diesen Knopfmutationen haben wir es aber mit Abspaltungsvorgängen zu tun, die stets innerhalb kurzer Frist einsetzen und nicht erst beim plötzlichen Wechsel der Lebensbedingungen, sondern bereits auf dem alten Nährboden in Erscheinung treten.

Technik zum Nachweis der Mutation.

Was zunächst die Technik zum Nachweis der ersterwähnten Mutationserscheinungen anlangt, so empfiehlt es sich, zur Beobachtung dieser Abspaltungsvorgänge von älteren auf flüssigen Nährmedien (Bouillon) gezüchteten Kulturen auszugehen und Ausstriche auf festen Nährböden — am geeignetsten ist meist die gewöhnliche Agarplatte — anzulegen. Ich habe flüssige Nährmedien als Ausgangsmaterial gewählt, weil in diesen viel früher die Bedingungen für die Auslösung der Mutation geschaffen werden als auf festen Nährböden. Diese Erscheinung beruht darauf, daß in den flüssigen Nährsubstraten infolge der stärkeren Vermehrung der Bakterien ein viel rascherer Abbau der Nahrungsstoffe und eine viel intensivere Einwirkung auf die Bakterien seitens der reichlich vorhandenen Stoffwechselprodukte stattfindet, auf deren wichtige, prädisponierende Rolle für die Mutation neuerdings Toeniessen (7) besonders hingewiesen hat.

Auf festen Nährböden, z. B. Agarröhrchen, wo die erwähnten Prozesse viel langsamer und in viel geringerem Umfange vor sich gehen, werden Verhältnisse, wie sie zum Auftreten der Mutation erforderlich sind, im allgemeinen erst wesentlich später herbeigeführt als in flüssigen Nährmedien. Aeltere zugeschmolzene Kulturröhrchen, in denen ja eine nennenswerte Weiterentwicklung der Keime und eine dadurch bedingte

1*

Erschöpfung des Nährbodens, sowie infolge der nur geringen Bildung von Stoffwechselprodukten eine Einwirkung derselben überhaupt nur in geringem Grade erfolgen konnte, liefern kein geeignetes Ausgangsmaterial; man wird hier in der Regel auf den neuen Nährböden keine Mutationserscheinungen beobachten. Nach dieser Richtung von mir durchgeführte Untersuchungen haben diese Annahme z. B. bei der Aussaat aus 9 Jahre alten Cholerakulturen, 8 Jahre alten Diphtheriestämmen, 7 Jahre alten *Bac. prodigosus*- und 7 bzw. 6 Jahre alten Paratyphus B-Kulturen bestätigt. Während also beim Wachstum auf Agarröhrchen die Kulturen im allgemeinen erst nach monatelangem Stehen ein für Mutation reifes Kulturmaterial aufweisen, werden bei einem großen Teil der untersuchten Bakterien in den flüssigen Nährböden die Bedingungen für die erwähnten Abspaltungsvorgänge bereits in wesentlich kürzerer Zeit, oft schon durch 8-tägiges Stehenlassen der Röhrchen ohne Ueberimpfung geschaffen. Es empfiehlt sich also, zum Nachweis der Mutationsvorgänge bei Benutzung flüssiger Nährmedien schon vom 8. Tage an in kurzen Zwischenräumen aus den im Brutschrank von 37° C gehaltenen, mit der speziellen Bakterienart beimpften Kulturröhrchen auf die neuen, festen Nährböden Ausstriche anzulegen. Dabei ist es zweckmäßig, bei der Ueberimpfung als neues Nährsubstrat einen für die betreffende Bakterienart möglichst günstigen Nährboden zu wählen, also möglichst nicht solche Nährmedien, die zwar durch Zusatz von Alkali, wie z. B. der alkalische Choleraagar, oder durch Beimengung von Farbstoffen, wie z. B. der Lackmus-Laktose-Agar oder der Malachitgrünagar, eine gewisse Elektivität für die entsprechende Bakterienart besitzen, trotzdem aber doch auch ihre Entwicklungsfähigkeit in gewissem Grade beeinträchtigen. Für eine große Reihe von Bakterien ist, wie bereits erwähnt, am besten die gewöhnliche Agarplatte geeignet. Bei einzelnen Bakteriengruppen, wie z. B. bei den säurefesten Stämmen, kommen besondere Spezialnährmedien, wie z. B. die Lubenauschen Eiernährböden, in Betracht.

Bei der Gewinnung der Mutationsstämme ist ferner der Umstand zu berücksichtigen, daß die als Ausgangsmaterial dienenden flüssigen und festen Kulturen über ein bestimmtes Alter hinaus zur Darstellung der Mutationsvorgänge nicht mehr verwendbar sind. Es besteht nämlich hinsichtlich des Alters der Ausgangsröhrchen ein gewisses Zeitoptimum, bei dem die Variationerscheinungen nach der Ueberimpfung auf den neuen Nährboden am vielseitigsten ausgeprägt sind. Nach diesem Zeitpunkt erfolgt bei den Kulturen eine rasche Abnahme der Fähigkeit, zu variieren, und schließlich entwickelt sich dann bei der Aussaat aus den alten Kulturröhrchen wie am Anfang der Untersuchung gewöhnlich auf dem neuen Nährmedium wieder nur eine bestimmte Kolonieart. Anscheinend bleibt in den alten Kulturröhrchen schließlich die resistanteste Form allein übrig, die jedoch häufig nicht der Ausgangsform entspricht, sondern irgendeine mutierte Varietät sein kann. Diese Beobachtung steht im Einklang mit der von Schottelius und Eisenberg vertretenen Anschauung, daß die Mutation nicht richtungslos verlaufe, sondern eine bestimmte biologische Bedeutung habe und vermutlich mit der Arterhaltung der Bakterien im Zusammenhang stehe. Toeniessen hat bereits bei den Friedländerschen Kapselbacillen experimentell den Nachweis einer derartigen Bedeutung der Mutation erbracht.

Ausdrücklich sei nochmals hervorgehoben, daß man unmittelbar zu Beginn der Mutationserscheinungen nach der Aussaat aus den alten Kulturröhrchen auf dem neuen Nährboden

nur ganz vereinzelt die neu abgespaltenen Mutationsformen neben den sehr zahlreichen Ausgangskolonieen eines Stammes vorfindet. Erst während der folgenden Tage ändert sich das Zahlenverhältnis der differenten Kolonienarten mehr zu gunsten der neuen Mutationsformen, da sich während dieser Zeit im alten Kulturröhrchen die Zahl der zur Mutation disponierten Keime ja ständig vermehrt, und schließlich wird man einige Zeit später sogar optimale Verhältnisse für die neue Varietät antreffen und bei der Abimpfung aus dem alten Kulturröhrchen auf den neuen Nährboden zahlreiche Mutationsformen neben den ursprünglichen erzielen.

Impft man nun während der erwähnten optimalen Zeit aus den älteren flüssigen Kulturen auf Agarplatten über, so beobachtet man als Ausdruck der erfolgten Variation stets eine Anzahl verschiedener Kolonien, die zum Teil recht bedeutende Differenzen untereinander aufweisen, wobei man ferner neben charakteristischen, im Aussehen stark voneinander abweichenden Koloniearten häufig scheinbare Uebergangs- oder Zwischenformen antrifft. Es läßt sich nun zunächst nicht ohne weiteres entscheiden, ob diese vorliegenden Veränderungen als Modifikation oder als Mutation zu deuten sind, sondern man kann erst durch Heranziehung von genauen Vererbungsversuchen, durch wiederholte Weiterimpfung von den einzelnen verschiedenartigen Kolonien auf neue Nährböden, feststellen, inwieweit in den einzelnen Fällen Mutations- oder Modifikationsvorgänge vorliegen. Wie schon eingangs erwähnt, kann man bei den Arbeiten mit Bakterien unter den verschiedensten Verhältnissen sehr häufig die Erscheinungen der Modifikation beobachten. Man wird also dieselben in gewissen Fällen gleichzeitig auch neben Mutationsvorgängen vorfinden; sie lassen sich aber, wie bereits hervorgehoben, ohne besondere Mühe dadurch von denen der Mutation abtrennen, daß sie nicht erblich konstant sind.

Impft man nämlich von den verschiedenartigen Kolonien mehrmals auf neue Nährböden über, so wird man beobachten, daß eine bestimmte Gruppe von Kolonien durchaus konstant in Form und Aussehen bleibt, und daß gleichzeitig die Bakterien, aus denen sich jeweils eine solche Kolonie zusammensetzt, im gefärbten mikroskopischen Ausstrichpräparat dann einen vollkommen einheitlichen Typ darstellen, während Involutions- bzw. Degenerationsformen, wie sie in den Ausstrichpräparaten von Kolonien der ersten Platte gelegentlich noch gefunden werden, nicht mehr nachzuweisen sind. Eine jeweilige genaue mikroskopische Kontrolle ist von wesentlicher Bedeutung, da man nur bei dem Vorhandensein eines einheitlichen Bakterientyps im mikroskopischen Bild mit einer wirklich reinen Kolonie einer bestimmten Mutante rechnen darf. Im Gegensatz zu diesen besonderen jeweils aus einem bestimmten Bakterientyp bestehenden Kolonienarten, welche bei der Weiterzüchtung ihre charakteristischen Eigenschaften konstant bewahren und den Ausgangspunkt zu den Mutationsstämmen bilden, stehen andere mehr oder weniger stark von ihnen und untereinander differente Kolonienformen, die nicht als Mutations- sondern als Modifikationsvorgänge aufzufassen sind, weil die Kolonien bei der Weiterzüchtung mehr oder weniger rasch die ursprüngliche Form und ihr bisheriges Aussehen verlieren, und ebenso die die betreffenden Kolonien bildenden Bakterien in ihrem morphologischen Verhalten einen raschen Wechsel zeigen. Bei einem großen Teil der oben erwähnten sogenannten Zwischen- oder Uebergangsformen handelt es sich um solche modifizierte Kolonien,

deren Veränderungen sich bei der weiteren Prüfung nicht als konstant und somit als Erscheinungen der Modifikation erweisen. Ein Teil solcher Kolonienformen kann aber auch Mischkolonien der verschiedenen Mutationsformen darstellen. Man findet dann bei der mikroskopischen Untersuchung dieser Kolonien im gefärbten Ausstrichpräparat nebeneinander verschiedene Bakterienformen, z. B. bei Cholera neben schlanken, zarten auch kurze, dicke Vibrionen im gleichen Gesichtsfeld. Durch weitere Plattenausstriche lassen sich von diesen Mischkolonien die verschiedenen oben erwähnten wohlcharakterisierten Typen der Mutationsvarietäten, isolieren, wobei dann auch die von den neuen Kolonien angefertigten gefärbten Ausstrichpräparate jeweils wieder einen einheitlichen Typ der Bakterien erkennen lassen. Anschließend sei hier erwähnt, daß das Bild der Variationserscheinungen auf den festen Nährböden ziemlich verschieden ist, je nachdem die Plattenausstriche mit Material aus alten Bouillon- oder alten Agarröhrchen angelegt worden sind. Bei Benützung alter Bouillonkulturen findet man auf den neuen Nährsubstraten meist in großer Zahl recht verschiedenartige Kolonien, bei denen es sich zum Teil um Modifikationserscheinungen handelt. Verwendet man alte Agarkulturen, so ist die Mannigfaltigkeit der verschiedenartigen Kolonien auf dem neuen Nährboden wesentlich geringer, und die sogenannten Uebergangsformen erweisen sich fast ausschließlich als Mischkolonien der einzelnen Mutanten.

Hervorheben möchte ich, daß selbstverständlich auch die verschiedenen Mutanten einer Kultur bei der Weiterzüchtung den Gesetzen der Modifikation, also der individuellen Variabilität, unterliegen. Daher erklärt es sich, daß z. B. der gelbe, coliartig wachsende Mutationsstamm einer Cholera- oder Typhuskultur bei der Weiterzüchtung einmal etwas hellere Kolonien, ein andermal wieder intensiver gelbe, trübe Scheibchen entwickelt, daß die Bakterien dieses Stammes bald plumper bald etwas graziler bei der Fortimpfung wachsen als die Ausgangsformen. Das Wesentliche ist aber dabei der Umstand, daß trotz der mehr oder weniger großen Schwankungen, welche von der jeweiligen Labilität einer Bakterienart — Cholera z. B. ist stark labil, Shiga-Kruse-Ruhr oder Typhus nur wenig — abhängen, die Erscheinungen der Modifikation (individuelle Variabilität) sich stets nur innerhalb eines gewissen Spielraums vollziehen, so daß sie niemals die scharfen Grenzen zwischen 2 Mutationsvarietäten verwischen. Eine gewisse Schwierigkeit in der Beurteilung bieten die schon innerhalb 24 Stunden oder weniger Tage wieder frisch mutierenden Mutationsstämme, wie z. B. die perlmutterartig glänzende Kolonienvarietät des *Bac. enteritidis* Gärtner, aus der sich innerhalb 24 Stunden bei der Fortimpfung wieder helle, durchscheinende Kolonien abspalten, deren Bakterien sich von denen der Ausgangskolonie wieder scharf abtrennen lassen. Daß es sich aber auch hier ebenfalls um Mutations- und nicht um Modifikationsvorgänge handelt, geht daraus hervor, daß bei der neuen Aussaat neben den neu entstandenen Kolonienarten stets gleichzeitig auch die charakteristischen Ausgangsformen, nämlich die perlmutterartig glänzenden Kolonien, auf dem Nährboden regelmäßig wiederzufinden sind. Bei Veränderungen, welche der gewöhnlichen individuellen Variabilität, also der Modifikation zugehören, beobachtet man dagegen immer nur geringe Schwankungen im Aussehen der Kolonien; die Kolonieförmigkeiten bewahren in diesem Falle, wenn sie auch unter sich und gegenüber der Ausgangskolonie einige Abweichungen zeigen, doch eine gewisse Gleichartigkeit. Vorteilhaft ist es

endlich in technischer Hinsicht bei dem vergleichenden Studium dieser Vorgänge die verschiedenen Kolonieförmigkeiten bei der Weiterimpfung möglichst auf ein und derselben Platte nebeneinander auszustreichen einmal, weil so möglichst gleichartige Versuchsbedingungen für die isolierten Mutationsstämme geschaffen werden — dieses Moment ist besonders zu berücksichtigen bei Farbstoff bildenden Bakterien — und zweitens, weil auf derselben Platte die Unterschiede der verschiedenen Kolonien schärfer hervortreten. Natürlich darf man sich bei der Prüfung nicht mit der mikroskopischen Untersuchung des morphologischen Verhaltens der Bakterien begnügen, sondern man muß die einzelnen getrennten Varietäten einer Kultur auch bezüglich ihres kulturellen und serologischen Verhaltens genau untersuchen, dann wird man am besten gegen Irrtümer oder Fehlschlüsse geschützt sein, und man wird auch mit Sicherheit die Möglichkeit einer etwaigen Verunreinigung, an die bei Verwendung von älteren, flüssigen Kulturen als Ausgangsmaterial immer auch gedacht werden muß, ausschließen können.

Die von verschiedenen Seiten erhobene Forderung, bei experimentellen Untersuchungen von Mutationsvorgängen von Einzell-Kulturen auszugehen, darf wohl fallen gelassen werden. Nach meiner persönlichen Erfahrung wie nach den Beobachtungen anderer Autoren, die sich eingehend mit dem Burrischen Tuscheverfahren (8) beschäftigt haben, vermehrt die komplizierte und recht zeitraubende Technik dieser Methode, die außerdem, wie ich bereits gezeigt habe, für gewisse Bakterienarten, z. B. Choleravibrionen, gar nicht anwendbar ist, nur die Gefahr der Verunreinigung. Auf die Einzell-Kultur kann man bei sorgfältigem Arbeiten, wenn man den für die Untersuchung ausgewählten Stamm vor Beginn der Versuche wiederholt überimpft und zugleich durch gefärbte Ausstrichpräparate mikroskopisch genau auf seine Reinheit kontrolliert, meines Erachtens sehr wohl verzichten, zumal wenn es gelingt, dieselben Abspaltungsvorgänge jeweils in gleicher Weise bei einer größeren Zahl von Kulturen derselben Bakterienart zu beobachten. Durch solches Vorgehen kann man auch am besten dem Einwand begegnen, man habe vielleicht mit Mischkulturen gearbeitet. Auch diese Möglichkeit muß berücksichtigt werden, da bei manchen Bakterienarten, wie z. B. bei Tuberkulose, Mischkulturen in Betracht kommen könnten.

Was die Technik zum Nachweis der sogenannten Knopfmuation betrifft, so kann man hier zwei Wege einschlagen, indem man entweder von den auf festen oder von den in flüssigen Nährmedien gezüchteten Kulturen ausgeht. Legt man aus jungen, auf festen Nährböden (Agar) gewachsenen Kulturen Plattenausstriche an, so sieht man bei manchen Bakterienarten mitunter, bei anderen regelmäßig oder fast regelmäßig nach einigen Tagen auf den ursprünglichen Kolonien knopfartig aufstehende Sekundärvegetationen zur Entwicklung kommen. Bei den meisten Bakterienarten handelt es sich hierbei um eine Erscheinung, welche dem Begriff der Modifikation zuzurechnen ist. Bei bestimmten Bakterienarten erweisen sich diese Tochterkolonien aber, wie bereits erwähnt, bei der Weiterzüchtung ebenfalls als echte Mutationsabspaltungen. Auch bei der weiteren Untersuchung dieser Vorgänge empfiehlt es sich, das Material von den Mutter- und den Tochterkolonien auf ein und derselben Platte nebeneinander auszustreichen, ebenso ist es auch hier erforderlich, die von den Mutter- und Tochterkolonien isolierten Stämme nicht nur bezüglich des morphologischen Verhaltens genau im mikroskopischen Präparat, sondern auch hinsichtlich ihrer sonstigen

kulturellen und biologischen Eigenschaften eingehend zu prüfen. Ferner muß man wieder berücksichtigen, daß erst durch wiederholte Ueberimpfung von den Knöpfen Mischkolonien ausgeschaltet und reine Mutationsstämme erhalten werden können.

Wählt man als Ausgangsmaterial für diese Untersuchungen in flüssigen Nährmedien gewachsene Kulturen, so findet man in diesem Falle mitunter schon nach einigen Tagen bei dem ersten Plattenausstrich auf dem festen Nährboden isolierte Kolonien der verschiedenen Mutationsstämme vor, von denen die einen Kolonien den auf den festen Nährsubstraten sonst erst sekundär auftretenden Knopfkolonien, die anderen den Mutterkolonien entsprechen. Infolgedessen entwickeln auch nach mehrtägigem stehenlassen solcher beimpfter Platten in diesem Falle nur die letzteren wieder sekundäre Knopfkolonien, während bei den ersteren die Knopfbildung ausbleibt.

Atavismus, bzw. Rückschlag bei Mutationsstämmen.

Gegen die Auffassung, daß es sich bei den von mir beschriebenen Abspaltungsvorgängen um Mutationserscheinungen bei Bakterien handelt, wurde verschiedentlich das Auftreten atavistischer Rückschläge bei den isolierten Mutationsstämmen angeführt. Diese atavistischen Rückschläge, deren Vorkommen bereits de Vries betont hat, und deren Auftreten von Beijerinck ebenfalls als gesetzmäßige Erscheinung bei Bakterien erkannt wurde, sind aber gerade als typische, der Mutation kongruente Vorgänge aufzufassen. Sie treten unter denselben Bedingungen wie die Mutation auf, nämlich dann, wenn die isolierten Mutationsstämme unter die gleichen Lebensverhältnisse gebracht werden, unter denen ursprünglich Mutationsvorgänge ausgelöst werden.

Man kann sie deshalb am besten zur Darstellung bringen, wenn man die isolierten Varietäten ebenso wie ursprünglich die Ausgangskulturen zur Auslösung der Mutation längere Zeit z. B. in Bouillon züchtet und dann eine neue Aussaat auf Agar oder einem anderen geeigneten festen Nährboden ausführt. Wie Beijerinck schon hervorgehoben hat, kann man beim Auftreten von solchen Abspaltungen bei den Bakterien im einzelnen Fall nicht entscheiden, ob hier Mutationsvorgänge oder atavistische Rückschläge vorliegen, weil man nicht weiß, welches die von Anfang an vorhandene, also die Ausgangsart, unter den vorliegenden verschiedenen Formen war. Bei Cholera z. B. kann man die hell wachsende Kolonieart nicht ohne weiteres als die primäre Form und die trübe Kolonien bildende Varietät als sekundäre, durch Mutation entstandene Art auffassen und demgemäß eine plötzliche Abspaltung von hellen, durchscheinenden Kolonien aus der trübwachsenden Mutante etwa als Atavismus deuten, da sich nicht feststellen läßt, welche von den beiden Koloniearten, die helle oder die trübe Form, ursprünglich vorhanden war. Wenn man früher im allgemeinen bei der Isolierung der Choleraerreger aus dem kranken Menschen die sogenannten hellen, durchscheinenden Kolonien als ursprünglich typische Wachstumsform ansah, so war dies doch in gewisser Hinsicht eine willkürliche Annahme. Nach den neueren Erfahrungen findet man bei der Isolierung aus dem Menschen häufig auch die trübe Kolonien bildende Varietät von Cholera-vibrien allein, wie mir erst jünger wieder von verschiedenen Autoren persönlich bestätigt wurde, und unter Umständen lassen sich auch beide Kolonieformen gleichzeitig auf einer Platte nebeneinander nachweisen.

Bedeutung des tierischen Organismus.

Schon anfänglich ist von mir darauf hingewiesen worden, daß Mutationerscheinungen bei Bakterien nicht nur auf künstlichen Nährböden, sondern auch im Tierkörper ausgelöst werden, und daß man somit bei der Isolierung pathogener Bakterien aus dem menschlichen oder tierischen Organismus schon auf den ersten Platten mit dem Auftreten von Mutationsstämmen rechnen muß. Entsprechende Beobachtungen sind inzwischen schon mehrfach mitgeteilt worden. Ausdrücklich ist neuerdings auf die Bedeutung des Organismus für die Umformung von Mikroorganismen von Bernhardt und Paneth (9) aufmerksam gemacht worden. Diese Einwirkung des Organismus auf die Bakterien ist ja auch durchaus natürlich. Unterliegen in ihm doch die Mikroorganismen den verschiedenartigsten Einflüssen. Neben den zahlreichen Abwehrmaßregeln des Körpers kommen unter anderem auch schädigende Einwirkungen durch chemische Substanzen, durch Verdauungssäfte, durch Abbauprodukte von Eiweiß hier in Betracht. Im Darm spielt wohl auch der Konkurrenzkampf unter den Bakterien eine Rolle. Daß so die Bakterien unter Existenzbedingungen gelangen, welche die Auslösung von Mutationsvorgängen begünstigen, so daß solche Abspaltungen bei der Isolierung aus dem Organismus auf Nährböden in Erscheinung treten, ist wohl verständlich. Auch erscheint es ohne weiteres erklärlich, daß derartige Veränderungen schon nach verhältnismäßig kurzem Aufenthalt der Bakterien im Organismus auftreten können, in wesentlich kürzerer Frist, als dies im allgemeinen auf den künstlichen Nährmedien der Fall ist. Wie bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden wird allerdings zur Erzielung der die Mutationsvorgänge begünstigenden Bedingungen eine gewisse Aufenthaltsdauer der Bakterien auch im Tierkörper erforderlich sein, es werden wohl auch hier optimale Zeitverhältnisse in Betracht kommen, deren zeitliche Grenzen infolge der komplizierten Verhältnisse im tierischen Organismus aber voraussichtlich großen Schwankungen unterliegen können. Es wäre vielleicht auch schon möglich, daß man bei besonders langem Aufenthalt einer Bakterienart im tierischen Organismus schließlich aus diesem ähnlich wie aus alten Kulturen auf künstlichen Nährböden nur noch eine Varietät isolieren kann, doch liegen sichere Beobachtungen in dieser Hinsicht noch nicht vor. Dagegen lassen sich anscheinend bei Benutzung hochvirulenter, in einigen Stunden tötender Stämme für die Tierversuche Mutationerscheinungen bei der Isolierung der Bakterien aus dem toten Tierkörper ebenso wie bei Ausstrichen aus jungen Agar- bzw. Bouillonkulturen nicht beobachten.

Für den Nachweis und das Studium der Mutation an Hand des Tierexperiments empfiehlt es sich, um ein vollständiges Bild von diesen Vorgängen zu erhalten, für die Isolierung der Bakterien aus dem Tierkörper stets eine größere Materialmenge unter Anlegung einiger Plattenreihen zu verwenden, da man berücksichtigen muß, daß ein nicht unbedeutlicher Teil der in dem Material enthaltenen Keime auf den künstlichen Nährböden nicht zur Entwicklung kommt, und bei der Isolierung aus den Faeces auch die Konkurrenz anderer Mikroorganismen eine schädigende Rolle spielt.

Die praktische Bedeutung der Mutationsvorgänge.

Die Tatsache, daß auch bei der Züchtung der Bakterien aus menschlichem und tierischem Material Mutationserscheinungen verhältnismäßig häufig beobachtet werden, ist für die bakteriologische Diagnose nicht ohne Bedeutung. So fand ich, um nur ein Beispiel anzuführen, gelegentlich einer Ruhrepidemie in etwa 60 Proz. der Fälle, in denen mir eine Isolierung der Erreger aus dem eingesandten Material gelang, bereits auf den ersten zur Aussaat verwendeten Platten ausgesprochene Mutationsformen. Voraussichtlich werden sich auch verschiedene Beobachtungen über das eigenartige serologische Verhalten mancher Kulturen durch Mutationsvorgänge bis zu einem gewissen Grade erklären. So z. B. dürfte mit Rücksicht auf die wiederholte Isolierung sogenannter inagglutinabler Bakterienstämme (*Bac. enter. Gärtner*, giftarme Dysenteriekulturen), die später dann von dem entsprechenden Serum gut agglutinatorisch beeinflusst wurden, die Tatsache von Interesse sein, daß bei verschiedenen Bakteriengruppen, wie *Bac. enter. Gärtner*, giftarmen Ruhrstämmen, *Bact. coli commune* und *Bact. coli mutabile* durch die Mutation inagglutinable Varietäten abgespalten werden, mit denen jedoch auf die andere agglutinable Varietät gut wirksame agglutinierende Immunsera gewonnen werden können. Bei Diphtheriekulturen wurde ferner von mir, von Bernhardt und Ornstein (10), sowie von Bernhardt und Paneth, ferner bei dem Friedländerschen Kapselbacillus von Toeniessen die Abspaltung von mehr oder weniger avirulenten, bzw. atoxischen Varietäten aus hochvirulenten, bzw. toxischen Stämmen beobachtet. Als weitere Beispiele für solche tiefgreifende, erblich konstante Veränderungen seien erwähnt z. B. die Entstehung von peptonisierenden Mutanten aus nicht peptonisierenden bei Cholera (*Baerthlein*), von Maltose vergärenden Varietäten bei Dysenteriestämmen [Reiner Müller (11), Lentz (12) und Bernhardt (13)], von asporogenen Rassen bei Milzbrand [Eisenberg (14)], sowie die Entwicklung einer nicht mehr schleimbildenden Mutante beim Friedländer-Bacillus [Kruse (15) und Wilde (16), *Baerthlein*, Gilde-meister, Toeniessen].

Welche Bedeutung diesen Beobachtungen in praktischer Hinsicht zukommt, läßt sich zurzeit noch nicht voll ermessen. Ich glaube aber, daß von einem eingehenden Studium dieser Vorgänge noch mancher wertvolle Aufschluß nicht nur bezüglich der Biologie der Bakterien, sondern auch auf dem Gebiete der Immunität erwartet werden darf.

Sind Mutationsvorgänge mit Degeneration identisch?

Im Vorstehenden ist bereits darauf hingewiesen worden, daß die Degenerationsvorgänge bei den Bakterien unter den Begriff der Modifikation fallen und mit den Mutationserscheinungen nicht in Beziehung gebracht werden dürfen. Da jedoch von verschiedener Seite die Mutationserscheinungen als Degenerationsprozesse angesprochen wurden, möchte ich hier doch noch in Kürze auf diese Frage eingehen. Wenn z. B. bei dem größten Teil sonst nicht hämolytischer Cholerakulturen der abgespaltene trübwachsende Mutationsstamm im Gegensatz zu der helle Kolonien bildenden Varietät die neu erworbene Eigenschaft der Hämolysinbildung besitzt, oder aus einem farblosen *Pyocyaneus*-Stamm sich plötzlich durch Mutation eine saftige grüne Kolonien bildende Varietät entwickelt und aus farblos wachsenden *B. prodigiosus*-

Stämmen stark farbstoffbildende Arten abgespalten werden, so handelt es sich hier sicherlich um Vorgänge, die eher im Sinne einer kräftigen, und gesteigerten Lebensfähigkeit der Bakterien wie als Degenerationserscheinungen gedeutet werden müssen. Andererseits darf die Tatsache, daß z. B. bei *B. coli*, den giftarmen Ruhrstämmen durch Mutation inagglutinable Varietäten entstehen und aus toxischen Diphtheriestämmen atypische und avirulente Diphtheriekulturen abgespalten werden können, nicht als Degenerationsvorgang aufgefaßt werden nur aus dem Grunde, weil hier einzelne Eigenschaften der Kulturen latent werden. Es handelt sich vielmehr auch hier bei den abgespaltenen Varietäten um voll lebensfähige Kulturen, welche keinerlei Degenerationsmerkmale, wie z. B. Involutionsformen, schlechte Färbbarkeit der Bakterienarten, aufweisen. Solche Degenerationserscheinungen treten auch bei diesen Stämmen ebenso wie bei den zugehörigen agglutinablen, bzw. virulenten Mutanten in der gleichen Weise nur dann auf, wenn sie auf demselben Nährmedium längere Zeit ohne Weiterimpfung belassen werden. In typischer Weise kann man dies gerade bei stark labilen Stämmen beispielsweise bei Cholera beobachten. Läßt man nämlich Agarkulturen der verschiedenen isolierten Mutationsstämme von Cholera einige Tage stehen, so findet man übereinstimmend ganz in gleicher Weise bei sämtlichen differenten Varietäten im gefärbten Ausstrichpräparat die bekannten feinen, kokkenähnlichen Gebilde oder die großen kugelförmigen, bzw. halbmondähnlichen, schlecht färbbaren Bakterienformen, die man als Involutions- oder Degenerationserscheinungen bezeichnet, welche jedoch in keiner Weise mit den morphologischen und färberischen Differenzen der einzelnen Mutationsformen identifiziert werden können, wie dies in der Arbeit von Czernel geschehen ist.

Wenn dieser Autor dabei zugleich angibt, daß man in den hellen Kolonien nicht immer, sondern nur häufig kleine, grazile Vibrionen findet, daß es helle Kolonien gibt, die auch aus langen, dünnen oder gar aus kleinen, plumpen Vibrionen bestehen, und daß man seltener sogenannte ovoide Stäbchen findet, so ist demgegenüber zu bemerken, daß die von mir gewählte Bezeichnung „grazil“, „plump“ bei den Vibrionen der differenten Mutationsstämme relativ zu nehmen ist, und daß diese Begriffe vergleichsweise auf die Bakterien der verschiedenen Varietäten ein und derselben Kultur anzuwenden sind. Die verschiedenen Cholerakulturen können jeweils recht differente Bacillenformen aufweisen, und einzelne Stämme aus langen, schlanken, andere aus kurzen, plumpwachsenden Vibrionen bestehen. Isoliert man nun die Mutanten solcher verschiedener Cholerakulturen, so wird man bei der hellen Varietät der einen Kultur längere, grazilere Bacillen, bei der anderen dagegen kürzere und plumpere Vibrionen finden. Vergleicht man aber die Vibrionen der einzelnen hellen Mutationsformen mit denen der zugehörigen gelbwachsenden Varietäten der Kulturen, so zeigt es sich, daß doch regelmäßig von den Mutanten einer Kultur die helle Kolonien bildende Varietät sich aus schlankeren, grazileren Vibrionen zusammensetzt, die trübwachsende Mutationsform dagegen aus kürzeren plumperen Bacillen besteht, daß insbesondere bei an und für sich schon kurz wachsenden hellen Formen die Bakterien der entsprechenden gelben Mutante ein direkt kokkenähnliches Wachstum aufweisen. Die erwähnten Gegensätze sind bei den einzelnen Cholerastämmen natürlich in verschieden hohem Maße ausgeprägt.

Von Czernel wird ferner im Gegensatz zu meinen und Eisenbergs Befunden berichtet, daß das Aussehen der einzelnen differenten Kolonien nicht konstant bleibe, „insofern als die blaue Farbe beim Weiterimpfen ins intensiv Gelbe oder ins Weiße überschlägt“. Anscheinend handelt es sich bei derartigen Befunden Czernels um die oben erwähnten sogenannten Mischkolonien, die noch nicht reine Mutationsstämme waren, oder um Variationserscheinungen, die als Modifikationen, also Erscheinungen der individuellen Variabilität, zu deuten sind, daher auch nicht konstant sein können. Daß bei den Beobachtungen von Czernel vielfach einfach Modifikationsvorgänge vorliegen, dürfte auch daraus hervorgehen, daß die beschriebenen Erscheinungen bei den auf Agar gehaltenen Kulturen bereits nach der Frist von 3 (!) Tagen beobachtet wurden, also nach einer Zeit, innerhalb der echte Mutationsabsplutungen bei Cholera auf Agar nach meinen Erfahrungen niemals auftreten dürften.

Aus dem Umstand, daß von Czernel die Begriffe der Mutation und Modifikation nicht scharf auseinandergehalten werden, erklärt sich auch die Auffassung des Autors, wonach der Unterschied zwischen Choleramutation und Degeneration nur in dem zeitlichen Auftreten bestehen dürfte, insofern als die mutativen Formen schon nach 24 Stunden entstehen, während die ihnen ganz ähnlichen degenerativen Formen erst nach längerer Zeit sich entwickeln. Dabei unterscheiden sich aber gerade die beiden Erscheinungen der Mutation und Degeneration dadurch, daß die Mutationsstämme bei regelmäßiger Weiterimpfung konstant nur die jeweilige Ausgangs-, also die ihnen gleiche Kolonieform bei der Weiterimpfung zeigen, während die von Czernel erwähnten Degenerationsformen und die Sekundärvegetationen von Cholerakolonien, also die knöpfchenartigen, gelb gefärbten Tochterkolonien, umgekehrt bei der Weiterzüchtung regelmäßig ein von der Ausgangsform abweichendes Koloniebild annehmen.

Auch die Annahme von Czernel, daß in jungen 8—16-stündigen Cholerakolonien nur grazile, gut bewegliche Vibrionen zu finden sind, ist meines Erachtens nicht richtig. Dagegen spricht bereits der Umstand, daß die einzelnen Cholerakulturen an und für sich recht verschiedenartig hinsichtlich der Form ihrer Vibrionen wachsen können, daß ein Teil der Stämme nach einer nur 5—6-stündigen Anreicherung in Bouillon oder Peptonwasser sich bereits aus kurzen plumpen Bacillen zusammensetzt, während ein anderer selbst nach 24 Stunden noch aus langen, feinen Vibrionen besteht.

Wie sehr Mutation und sogenannte Degeneration voneinander im Wesen verschieden sind, kann man noch besser erkennen, wenn man geeignetere Versuchsobjekte als die bekanntlich stark labilen Cholera-vibrionen heranzieht, z. B. Paratyphus B oder giftarme Ruhrstämme. Hier wird man niemals, auch bei noch so lang dauernder Beobachtung finden, daß die in großen, zackigen, weinblattförmigen Kolonien wachsenden Mutationsstämme der genannten Bakterienarten beim langen Stehenlassen der Nährbödenplatten das Koloniebild der anderen in Form kleiner, runder, heller Scheibchen sich entwickelnden Varietät auch nur teilweise annehmen, obwohl während dieser Zeit die sogenannten Degenerationerscheinungen reichlich Gelegenheit zur Entwicklung haben. Man sieht vielmehr bei jeder der differenten Kolonieformen eben nur die allgemeinen sogenannten Degenerationsmerkmale, z. B. starke Trübung, Oberflächenschrumpfung der Kolonien, Verdickung einzelner Stellen der

Kolonieen, verschiedenartige Sekundärvegetationen, sowie ferner, daß die Bakterien im Gegensatz zu der bei den Mutationsformen beobachteten guten partiellen oder segmentierten Färbung eine schlechte Färbbarkeit der ganzen Bakterienleiber allmählich in steigendem Maße aufweisen. Wenn man also regelrechte Vererbungsversuche in Form von Ueberimpfungen ausführt und dabei vergleichsweise stets auf ein und derselben Platte die differenten Kolonieförmlichkeiten nebeneinander aussät, ferner eine genaue vergleichsweise durchgeführte mikroskopische Kontrolle von den Bakterien der verschiedenen Mutanten ein und derselben Kultur vornimmt, wird man eine Verwechslung von Mutations- und Degenerationsformen ohne Schwierigkeit vermeiden können.

Literatur.

- 1) Czernel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 2.
- 2) de Vries, Die Mutationstheorie. Bd. 1. 2. Leipzig (Veit & Co.) 1901—1903.
- 3) Standfuss, Ueber die Gründe der Variation und Aberration des Falterstadiums bei Schmetterlingen. (Insektenbörse. 1894. No. 11.)
- 4) Bauer, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Berlin 1911.
- 5) Johannsen, Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Jena (Fischer) 1909.
- 6) Beijerinck, Folia microbiol. 1912.
- 7) Toeniessen, Ueber Mutationserscheinungen bei Bakterien. (Med. Klin. 1903. No. 20.)
- 8) Burri, Das Tuscheverfahren. Jena (G. Fischer) 1909.
- 9) Bernhardt u. Paneth, 7. Tagung d. freien Vereinig. f. Mikrobiolog. 1913.
- 10) — u. Ornstein, Berlin. klin. Wochenschr. 1913.
- 11) Reiner Müller, Dtsche. med. Wochenschr. 1910.
- 12) Lentz, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 15.
- 13) Bernhardt, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 15.
- 14) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66.
- 15) Kruse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57.
- 16) Wilde, [Dissert.] Bonn 1896.
- 17) Baerthlein, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. 1912. 1913.
- 18) — Arbeit. a. d. Kais. Gesundh.-Amt. 1912.
- 19) — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66.
- 20) — 7. Tagung d. freien Vereinig. f. Mikrobiolog. 1913.

Nachdruck verboten.

Nachuntersuchungen von Paratyphus-B-Bakterienträgerinnen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Gärtner).]

Von **Adolf Fischer**, Jena.

Gelegentlich einer im Winter vorigen Jahres in der Großherzogl. Sächs. Landes-Irrenanstalt „Carl-Friedrich-Hospital“ zu Blankenhain S.-W. ausgebrochenen Typhusepidemie wurden von der Laboratoriumsgehilfin der hiesigen Untersuchungsstelle für Infektionskrankheiten, Frl. Fleischhauer, das Blutserum sowie die Stühle sämtlicher 600 Insassen der Anstalt einer systematischen Untersuchung unterzogen, wobei sich als Nebenbefund herausstellte, daß 17 Patientinnen in ihren Entleerungen Paratyphusbakterien Typus B ausschieden, während sich unter den 300 männlichen Patienten keine Paratyphusbakterienträger ermitteln ließen. Die nachstehende Tabelle 1 läßt erkennen, daß trotz der An-

wesenheit der Paratyphusbakterien im Darmtraktus das Blutserum in nur einem Falle von den 17, d. i. in 5,9 Proz. Paratyphusbakterien, dagegen 7 mal, d. i. in 41,4 Proz. Typhusbakterien agglutinierte.

Tabelle 1.

Lfd. No.	Namen d. Pat.	Stuhlbefund	Widal Typhus	Widal Paratyphus
1	Ba.	Para-B +	—	—
2	Elise Ra.	dgl.	+ 1:50	—
3	Lip.	"	+ 1:500	—
4	Span.	"	+ 1:50	—
5	Ulr.	"	—	+ 1:200
6	Rau.	"	+ 1:300	—
7	A. Müll.	"	+ 1:50	—
8	Lei.	"	+ 1:100	—
9	Gros.	"	+ 1:50	—

Pat. No. 7 kam bei den folgenden Nachuntersuchungen nicht in Betracht, da sie in der Zwischenzeit an einem Pyloruscarcinom gestorben war. Bei der Obduktion war nicht das geringste Anzeichen einer abgelaufenen paratyphösen Erkrankung vorhanden, und obwohl zwischen dem positiven Stuhlbefund (21. März) und dem Todestage (15. Mai) die relativ kurze Zeit von 55 Tagen verstrichen war, konnten weder aus Niere, Leber, Herz, Gallenblase, Dick- und oberer Dünndarm, von denen Teile zwecks Anreicherung in Röhrchen mit steriler Rindergalle gebracht worden waren, Paratyphusbakterien gezüchtet werden.

Von den 17 Patientinnen liessen sich 6 mal, d. i. in 35,3 Proz. anamnestisch Erkrankungen feststellen, die ihren Symptomen nach wohl mit einer Paratyphusinfektion in Zusammenhang gebracht werden können, während man bei den 11 übrigen Patientinnen, d. i. in 64,7 Proz., da hier die Anamnese gänzlich versagt, auf bloße Vermutungen angewiesen ist (Tabelle 2).

Tabelle 2.

Lfd. No.	Name d. Pat.	Anamnese
1	Ba.	Wochenlang Fieber, keine typhösen Symptome, Stuhluntersuchung negativ. Dezember 1910 bis Januar 1911.
2	Elise Ra.	Februar 1908 langdauernde Influenza.
3	Lip.	Februar 1911 fieberhafte Erkrankung ohne typhöse Symptome, Stuhluntersuchung negativ.
4	Ulr.	Juli 1908 mehrwöchentliche fieberhafte Erkrankung, danach Schenkelvenenthrombose.
5	Lei.	1899 Durchfälle, Fieber.
6	P. Schmi.	1886 „Nervenfieber“ wochenlang gelegen.
7	D. Eberh.	Unbekannt (seit Jahrzehnten verblödet).

Um zu sehen, ob es sich bei den Paratyphusbakterienbefunden im Stuhl nur um eine vorübergehende (alimentäre) Ausscheidung handelte, oder ob diese in Frage stehenden Personen als Bacillenträgerinnen anzusprechen seien, unterzog ich die Stühle der 16 Patientinnen in der Zeit vom 5. Jan. bis zum 23. März d. J. einer mehrmaligen Nachprüfung. Die Stuhlproben wurden sofort nach der Einsendung auf je drei Endo-, drei Drigalski- und eine Malachitgrünagarplatte verstrichen, worauf die Platten auf 24 Stunden in den Brutschrank kamen; während dann aber von den Endo- und Drigalski-Platten die verdächtigen Kolonien auf Schrägagarröhrchen abgeimpft wurden, wurden die Malachitgrün-

agarplatten nach Lentz-Tietz abgeschwemmt; mit der erhaltenen Abschwemmungsflüssigkeit wurden weitere drei Endo-Platten beschickt. Nach 24-stünd. Aufbewahrung im Brutschrank stellte ich mit den Agarkulturen die Probeagglutination mit Kaninchenparatyphusimmunserum (Titer 1:1000) auf dem Objektträger an, wobei gleichzeitig die Kulturen zur Kontrolle mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verrieben wurden. Fiel die Probeagglutination positiv aus, so folgte im Anschluß daran die Widalsche Reaktion; ergab aber die Probeagglutination ein negatives Resultat, so unterwarf ich die auf der zweiten Endo-Serie farblos wachsenden Kolonien dem gleichen Verfahren.

Um mir eine eventuelle schubweise stattfindende Bakterienausscheidung nicht entgehen zu lassen, untersuchte ich die bakterienfreien Stühle zunächst noch weitere zwei Mal in 8—14-täg. Zwischenräumen.

Da trotz massenhafter Anwesenheit von Paratyphusbakterien, besonders im oberen Darmtraktus, zuweilen nur wenige oder gar keine Paratyphusbakterien in den Entleerungen der betreffenden Patienten nachzuweisen sind, untersuchte ich sämtliche Stühle nach weiteren zwei Wochen zum vierten Male, nachdem den Patientinnen als Abführmittel 1½ Eßlöffel Rizinusöl verabreicht worden war. Bei dieser Untersuchung (s. Tabelle 3), fand ich bei der E. Kays. jetzt keine Paratyphusbakterien mehr, während ich sie aus den Entleerungen der Patientinnen Lei. und P. Schmi. herauszüchten konnte, wenn auch so spärlich, daß ihr Nachweis nur durch das Abschwemmungsverfahren gelang. Nach einiger Zeit unterzog ich die Stühle dieser drei Patientinnen einer nochmaligen Nachprüfung ohne Anwendung eines Laxans mit einem in allen drei Fällen negativen Resultat.

Der Umstand, daß bei den Patientinnen Lei. und P. Schmi. nur nach Verabreichung eines Abführmittels Paratyphusbakterien erhalten werden konnten, während vier Untersuchungen teils vor teils nach dem Rizinusstuhl kein positives Ergebnis hatten, berechtigt mit großer Wahrscheinlichkeit zu der Annahme, daß die Paratyphusbakterien, welche im normalen Darm vom oberen Dünndarm an nach dem Darmende zu immer mehr abnehmen, bei Diarrhöen lebenskräftig in den Faeces vorhanden sind.

Auf Grund meiner Untersuchungsergebnisse halte ich es mit Brückner u. a. für unzureichend, eine bakteriologische Genesung nach dreimal negativ verlaufener Stuhluntersuchung anzunehmen; vielmehr halte ich die Aufforderung, man solle einen an Typhus oder Paratyphus erkrankt gewesenen Patienten erst dann für bakteriologisch genesen erklären, wenn ein Jahr lang monatlich einmal der Stuhl ohne Resultat untersucht worden ist, für voll berechtigt, ja, ich gehe noch einen Schritt weiter und halte es für zweckentsprechender und sicherer, nicht die normalen Stühle, sondern die durch Abführmittel erhaltenen dünnbreiigen oder flüssigen Faeces für die Nachprüfung zu verwerten.

Durch diese Maßregel, deren Umsetzung in die Praxis naturgemäß oftmals auf Schwierigkeiten stoßen wird und die sich nur bei einem Bruchteil der Patienten befolgen läßt, wird die Kontrolle das an Sicherheit gewinnen, was sie an Bequemlichkeit verliert; aber dem Hauptziel der Kontrolle, die Bacillenträger ausfindig zu machen und sie nach Möglichkeit von Berufen, in welchen sie ihre Mitmenschen gefährden, fernzuhalten, kommt man auf diese Weise einen nicht unbedeutenden Schritt näher.

Erwähnt sei der große Vorteil des Lentz-Tietzschens Abschwemmungsverfahrens, das mich in zwei Fällen Paratyphusbakterien finden ließ, wo Endo- wie Drigalski-Platten zunächst versagt hatten. Auch zeigten sich für die Auffindung die Endo-Platten besser als die v. Drigalski-Conradi-Platten.

Das Wachstum der bei meinen Spätkontrollen gewonnenen Stämme prüfte ich zwecks einer genauen kulturellen Differenzialdiagnose auf folgenden Nährmedien: Bouillon, Peptonwasser, Milch, Lackmusmolke, Barsiekow-Traubenzucker, Barsiekow-Milchzucker, Lackmusmannit-nutroselösung nach Hetsch, sowie auf Endo- und Drigalski-Platten.

Da die isolierten Bakterienstämme auf allen diesen Nährböden mit den typischen Eigenschaften der Paratyphusbakterien Typus B wuchsen, so ist die Identität mit diesen wohl nicht in Zweifel zu ziehen. Leider konnte mir das Blutserum der Patientinnen nicht zur Verfügung gestellt werden, so daß von der Ausführung der Widalschen Reaktion Abstand genommen werden mußte. Die beiliegende Tabelle 3 zeigt die Resultate meiner Nachprüfungen.

Tabelle 3.

Lfd. No.	Name d. Pat.	Datum und Ergebnis der Stuhluntersuchung						Paratyphus-agglutination
					Rizinus			
1	Ba.	5. Jan. —	16. Jan. —	28. Jan. —	28. Febr. —	.	—	—
2	Elise Ra.	5. „ —	16. „ —	28. „ —	28. „ —	.	—	—
3	Lip.	5. „ +	nicht untersucht	28. „ +	28. „ +	.	1 : 1000	—
4	Span.	5. „ +	28. „ —	28. „ —	28. „ —	.	1 : 1000	—
5	Ulr.	5. „ —	16. Jan. —	28. Jan. —	28. „ —	.	—	—
6	Rau.	21. „ —	28. „ —	5. Febr. —	28. „ —	.	—	—
7	A. Müll.			gestorben				
8	Lei.	21. Jan. —	28. Jan. —	5. Febr. —	8. März +	23. März —	1 : 500	—
9	Gros.	21. „ —	28. „ —	5. „ —	8. „ —	.	—	—
10	Fr. Kays.	21. „ —	28. „ —	5. „ —	8. „ —	.	—	—
11	Schäf.	21. „ —	28. „ —	5. „ —	8. „ —	.	—	—
12	E. Kays.	31. „ +	nicht untersucht	8. „ —	23. März —	1 : 1000	—	—
13	P. Schmi.	31. „ —	13. Febr. —	20. Febr. —	9. „ +	23. „ —	1 : 500	—
14	Trin.	31. „ —	13. „ —	20. „ —	9. „ —	.	—	—
15	Breit.	31. „ —	13. „ —	20. „ —	10. „ —	.	—	—
16	Suchsl.	31. „ —	13. „ —	20. „ —	9. „ —	.	—	—
17	D. Eberh.	31. „ —	13. „ —	20. „ —	9. „ —	.	—	—

Es sind also, da zur Zeit der Spätkontrollen die Entleerungen von 5 Patientinnen, d. i. in 31,25 Proz., konstant oder nur zeitweise Paratyphusbakterien enthielten, diese Personen als chronische Bacillenträgerinnen anzusprechen, die übrigen 11, d. i. in 68,75 Proz., sind nach den bisher geltenden Meinungen als bakteriologisch genesen zu betrachten; nach den Anschauungen von Brückner u. a. jedoch muß diese Frage einer bakteriologischen Genesung zur Beantwortung noch offen gelassen werden, da die Beobachtungszeit viel zu kurz ist, um ein endgültiges Urteil abgeben und eine Ausscheidung mit Sicherheit ausschließen zu können; ist es doch leicht möglich, daß die viermalige resultatlose Stuhluntersuchung gerade in die negative Phase einer schubweise stattfindenden Ausscheidung fiel.

Bemerkenswert ist, daß die Patientin P. Schmi. im Jahre 1886 wochenlang an „Nervenfieber“ erkrankt war; wollte man hier eine spätere

Infektion ausschließen, so müßten sich die Paratyphusbakterien in ihr 27 Jahre lang lebenskräftig erhalten haben.

Zur Zeit meiner Untersuchungen züchtete ich aus den zur Nachprüfung eingeschickten Faeces einer Patientin, welche vor längerer Zeit an einem auch bakteriologisch bestätigten Abdominaltyphus erkrankt war, Paratyphus-B-Bakterien, die von Kaninchenparatyphusimmunserum (Titer 1:1000) bis zu einer Verdünnung von 1:500 agglutiniert wurden. Dieser Fall ähnelt dem von Brückner beschriebenen, welcher ebenfalls aus dem Stuhle eines an Abdominaltyphus erkrankt gewesenen Patienten 9 Monate nach der Erkrankung gelegentlich einer Spätkontrolle Paratyphus-B-Bakterien züchten konnte.

Derartige Befunde kann man sich wohl durch die Annahme erklären, daß die eine Bakterienausscheidung veranlassende Paratyphusinfektion erst sekundär erfolgte, oder daß neben den Typhus- gleichzeitig auch Paratyphusbakterien im Organismus vorhanden waren, daß aber die Typhusbakterien eher zugrunde gingen als die Paratyphusbakterien.

Den oben erwähnten Stamm (No. 18) habe ich bei den folgenden Tierversuchen mit verwandt.

Um die gewonnenen Stämme auf ihre Virulenz zu prüfen, wurden Versuche an Meerschweinchen unternommen; hierbei schaltete ich Fehlerquellen, die geeignet gewesen wären, eine Pathogenität der Paratyphusbakterien vorzutäuschen, dadurch aus, daß ich zu den Versuchstieren stets Kontrolltiere setzte und diese der Beobachtung resp. der Temperaturmessung mit unterwarf.

Die Versuche gestalteten sich folgendermaßen:

- I. Fütterungsversuche: Einverleibung der Paratyphusbakterien
 - a) mit dem Futter,
 - b) mit der Sonde.
- II. Versuche, durch welche etwa vorhandene Toxine nachgewiesen werden sollten.
- III. Versuche, um die Virulenz der Paratyphusbakterien bei intraperitonealer Einverleibung festzustellen.

Fütterungsversuche: Zur Ausführung der Fütterungsversuche stellte ich mir 14 Tage lang täglich eine Aufschwemmung von Bakterien einer 24—48 Stunden alten Agarkultur in der Weise her, daß ich je 2 Agarröhrchen mehrmals mit steriler Kochsalzlösung abschwemmte; von dieser Aufschwemmung erhielten die Tiere der ersten Versuchsreihe 1 ccm mit einer Pipette in die Mundhöhle, wobei ich darauf achtete, daß die Tiere die Flüssigkeit sofort verschluckten; der Rest der Aufschwemmung (ca. 10 ccm) wurde über fein geschnittene Rüben gegossen und von den Meerschweinchen der zweiten Versuchsreihe sofort gefressen.

Toxinprüfung: Das Vorhandensein von Toxinen prüfte ich an einer neuen Reihe in der Weise, daß ich je 3 Oesen einer 24-stünd. Agarkultur in 3 ccm NaCl-Lösung sorgfältig verrieb und diese homogene Aufschwemmung im Wasserbade 1 Stunde bei 56° C im Thermostaten hielt; nachdem die Flüssigkeit erkaltet war, bekam jedes Tier 2 ccm = 2 Oesen intraperitoneal.

Intraperitoneale Virulenzprüfung: Die Tiere dieser Gruppe erhielten je 1 Oese lebender Bakterien aufgeschwemmt in 1 ccm NaCl-Lösung intraperitoneal.

Der Umstand, daß die Meerschweinchen der beiden Fütterungsgruppen am Ende des Versuchs eine mehrfach nicht unerhebliche Gewichtszunahme aufwiesen, läßt erkennen, daß die Zufuhr der Para-

typhusbakterien durch den Darmkanal die Tiere nicht geschädigt hat (s. Tabelle 4 und 5). In den Faeces konnten massenhaft Paratyphusbakterien nachgewiesen werden, dagegen gelang nicht die Züchtung der Bakterien aus dem Blute und den Organen eines interkurrent eingegangenen und eines getöteten Tieres; bei letzterem fiel die Widalsche Reaktion negativ aus.

Tabelle 4.
Einverleibung der Paratyphusbakterien mit der Pipette.

Lfd. No. d. Meerschw.	Stamm-No. Name d. Pat.	Gewicht zu		Gewichtsdifferenz nach 14-tägiger Fütterung
		Beginn	Ende d. Versuchs	
Mschw. 1	3 Lip.	355 g	400 g	+ 45 g
" 2	4 Span.	300 "	300 "	—
" 3	4 Span.	290 "	300 "	+ 10 g
" 4	12 E. Kays.	350 "	380 "	+ 30 "
" 5	18 A. We. (Hild-burghausen)	290 "	330 "	+ 40 "

Tabelle 5.
Einverleibung der Paratyphusbakterien mit dem Futter.

Lfd. No. d. Meerschw.	Stamm-No. Name d. Pat.	Gewicht zu		Gewichts-differenz	Bemerkungen
		Beginn	Ende d. Versuchs		
Mschw. 6	3 Lip.	440 g	465 g	+ 25 g	stirbt nach 3 Wochen interkurrent.
" 7	4 Span.	275 "	305 "	+ 30 "	wird nach dem Versuch getötet, Widal negativ.
" 8	4 Span.	250 "	265 "	+ 15 "	
" 9	12 E. Kays.	300 "	315 "	+ 15 "	
" 10	18 A. We. (Hild-burghausen)	325 "	395 "	+ 70 "	

Die Tiere, denen 2 Oesen einer abgetöteten Kultur intraperitoneal gegeben worden waren (s. Tabelle 6), erkrankten wohl nach der Injektion für kurze Zeit, wobei die Nahrungsaufnahme etwas herabgesetzt war und die Tiere mit gestäubten Haaren in den Behältern saßen; jedoch war die Erkrankung eine so leichte, daß sie sich schon am Tage nach der Injektion vollständig erholt hatten und keinerlei auffällige Erscheinungen, welche auf die Wirkung eines in der Aufschwemmung enthaltenen Toxins hätten zurückgeführt werden können, vorhanden waren.

Tabelle 6.
Intraperitoneale Einverleibung von 2 ccm = 2 Oesen Aufschwemmung, die 1 Stunde bei 56° C gehalten wurde.

Lfd. No. d. Meerschw.	Stamm-No. Name d. Pat.	Gewicht zu		Gewichts-differenz
		Beginn	Ende d. Versuchs	
Mschw. 11	3 Lip.	275 g	315 g	+ 40 g
" 12	4 Span.	305 "	365 "	+ 60 "
" 13	12 E. Kays.	270 "	290 "	+ 20 "
" 14	18 A. We. (Hild-burghausen)	245 "	260 "	+ 15 "

Tabelle 7.
1 ccm Aufschwemmung 1 Oese lebender Kultur intraperitoneal.

Lfd. No. der Meer-schweinchen	Stamm-No., Name der Patienten	Gewicht bei der Injektion	Exitus nach	Obduktionsbefund
Meersch. 15	3 Lip.	345 g	19 St.	Peritonitis purulenta diffusa, Eiteransammlung zwischen Leber und Zwerchfell, in der Pleurahöhle geringes Exsudat, in der Lunge einige hämorrhagische Infarkte.
Meersch. 16	4 Span.	280 g	16 St.	Milz und Leber stark bluthaltig, fast rein seröses Exsudat in der Bauchhöhle, Serosa überall glatt und glänzend, aus dem Querschnitt von Leber und Milz werden Paratyphus- und Coli-Bakterien gezüchtet.
Meersch. 17	12 E. Kays.	330 g	15—21 St.	Im Abdomen viel eitriges Exsudat, viel Eiter zwischen Zwerchfell und Leber, Serosa stark getrübt und dick mit Fibrin bedeckt, die Darmschleimhaut ist von mehreren kleinen Blutungen durchsetzt, in der Pleurahöhle ziemlich viel und etwas getrübt Exsudat, in der Lunge mehrere hämorrhagische Infarkte.
Meersch. 18	18 A. W. (Hild-burghausen)	375 g	20 St.	Eitriges Exsudat im Abdomen, Milz und Leber sehr blutreich, die Darmschlingen sind an vielen Stellen verklebt, die Darmschleimhaut zeigt an mehreren Stellen kleine Blutungen, in der Pleurahöhle geringes Exsudat, in der Lunge einige hämorrhagische Infarkte, Mesenterialgefäße sehr stark bluthaltig, ebenso der Ventrikel.

Die mit lebenden Paratyphusbakterien behandelten Tiere dagegen erkrankten schon wenige Stunden nach der Injektion unter schweren Erscheinungen, welche sich rasch steigernd in 16—20 Stunden zum Exitus führten (s. Tabelle 7). Die Tiere saßen zunächst mit struppigem Fell scheu in einer Ecke des Behälters und verweigerten bald vollständig die Nahrung; dann wurden sie immer apathischer, wobei die Atmung beschleunigter und oberflächlicher wurde; legte man in diesem Stadium die Tiere auf den Rücken, so gelang es ihnen nur unter großen Anstrengungen sich wieder auf die Beine zu richten, meist blieben sie regungslos auf der Seite liegen; ferner hatte man den Eindruck, als wäre das Abdomen etwas aufgetrieben und stark druckempfindlich; allmählich machte aber die gesteigerte Atmungsfrequenz einer hochgradigen Verlangsamung Platz, bis sich schließlich tonisch-klonische Krämpfe einstellten. Drei Tiere — das vierte starb in der Nacht, ohne sub finem vitae beobachtet worden zu sein — legten sich zu Beginn der

2*

Krämpfe auf die Seite, und da selbst bei genauem Zusehen von einer Atmung nichts mehr zu bemerken war, wurden sie für tot gehalten; nach $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunde jedoch hatten sich die Tiere wieder soweit erholt, daß sie, wenn auch nur mit großer Mühe, unter Taumeln und Muskelzittern etwas umherkriechen konnten, wobei der Leib auf dem Boden schleifte und die Tiere die Hinterbeine träge nachzogen. Bald traten aber die Krämpfe von neuem und in verstärktem Grade auf, so daß die Tiere unter den Zeichen einer zunehmenden Herzschwäche ad exitum kamen.

Die Obduktion ergab in allen Fällen in der Gegend der Injektionsstelle eine ödematöse Durchtränkung des Unterhautzellgewebes, ferner eine serofibrinöse Peritonitis, die mehr oder weniger im Begriffe war, einen eitrigen Charakter anzunehmen und alle Organe des Abdomens in Mitleidenschaft ziehend in der Gegend des Einstiches doch am weitesten vorgeschritten war. Im Abdomen fanden sich wenige Kubikzentimeter eines trüben Exsudats, in welchem kleine Eiterflöckchen suspendiert waren, das Peritoneum sowie das Mesenterium waren stark injiziert, die Gefäße des letzteren stark gefüllt, die Darmschlingen waren teilweise miteinander verklebt, die Serosa im allgemeinen glatt und glänzend, an einigen Stellen jedoch trüb und mit einer sulzigen Masse bedeckt, zwischen Leberoberfläche und Zwerchfell war in 2 Fällen eine größere Menge reinen Eiters, Schwellung und Degeneration der drüsigen Organe war makroskopisch nicht wahrzunehmen, wohl aber eine starke Blutfüllung, die Darmschleimhaut zeigte sich 2mal an einigen Stellen von hämorrhagischen Infiltraten durchsetzt. In der Pleurahöhle befand sich ein geringes, nur wenig getrübbtes Exsudat, das Herz war schlaff, der Ventrikel weit und mit dunklem, flüssigem Blute gefüllt, die Lungen wiesen 3mal mehrere 2—4 mm große hämorrhagische Infarkte auf.

Paratyphusbakterien ließen sich im Exsudat der Bauchhöhle in großer Zahl, in dem der Pleurahöhle jedoch nur vereinzelt nachweisen; von der Schnittfläche der Leber, Milz sowie aus dem Herzblute konnten sie in Gemeinschaft mit ganz vereinzelt Streptokokken und 2mal mit Coli-Bakterien gezüchtet werden; dagegen mißlang der Nachweis der Paratyphusbakterien aus der Niere und dem Darminhalte, aus welchem nur Coli-Bakterien isoliert wurden.

Da die injizierten Paratyphusbakterien bei dieser letzten Versuchsreihe so stürmische Erscheinungen auslösten, daß die Tiere in kurzem ad exitum kamen, wiederholte ich den Versuch, jedoch mit weit geringeren Mengen, und zwar verwandte ich nur 2 Stämme (St. 18 und 4). Je ein Tier erhielt $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{1000}$ und $\frac{1}{1000000}$ Oese einer 18-stündigen Agarkultur in 1 ccm steriler NaCl-Lösung aufgeschwemmt intraperitoneal; weil aber diese Gruppe während der Versuchsdauer außerhalb des Instituts gehalten wurde, mithin die Lebensbedingungen sich etwas anders gestalteten, hielt ich 2 Kontrolltiere, von denen das eine nichts, das andere 1 ccm steriler NaCl-Lösung ohne Bakterien intraperitoneal erhalten hatte. Sämtliche Tiere (Meersch. 19—28) überstanden die Injektion ohne besonders schwere klinische Erscheinungen.

Tabelle 8.

(Temperaturschwankungen, Grenzwerte darstellend.)

Kontrolltiere (Meersch. 19 u. 20)	36,6°—37,7°	1,1°
$\frac{1}{1000000}$ Oese (" 21 " 22)	36,0°—37,8°	1,8°
$\frac{1}{10000}$ " (" 23 " 24)	35,8°—38,1°	2,3°
$\frac{1}{100}$ " (" 25 " 26)	35,6°—38,3°	2,7°
$\frac{1}{10}$ " (" 27 " 28)	35,6°—38,5°	2,9°

Aus der Temperaturkurve (s. Tabelle 8) kann der pyrogene Effekt der injizierten Paratyphusbakterien ersehen werden; die beiden Kontrolltiere (Meersch. 19 und 20) nahmen während der Beobachtungszeit an Gewicht zu, die anderen Tiere dagegen mehr oder weniger ab (s. Tabelle 9); wie ferner aus den Tabellen 8 und 9 zu bemerken ist, bewegen sich die Temperatur- wie Gewichtsschwankungen in Grenzen, welche der Menge der injizierten Bakterien proportional sind.

Tabelle 9.
(Gewichtsschwankungen.)

	19. 2.	26. 2.	5. 3.	Differenz
Kontrolltiere				
Meersch. 19	400 g	425 g	440 g	+ 40 g
Meersch. 20	270 "	285 "	295 "	+ 25 "
$1/1000000$ Oese				
St. 18, Meersch. 21	430 g	410 g	stirbt inter- kurrent	— 20 g
St. 4, Meersch. 22	490 "	470 "	465 g	— 25 "
$1/1000$ Oese				
St. 18, Meersch. 23	480 g	435 g	465 g	— 45 g
St. 4, Meersch. 24	375 "	335 "	370 "	— 40 "
$1/100$ Oese				
St. 18, Meersch. 25	415 g	365 g	375 g	— 50 g
St. 4, Meersch. 26	365 "	320 "	335 "	— 45 "
$1/10$ Oese				
St. 18, Meersch. 27	395 g	290 g	350 g	— 105 g
St. 4, Meersch. 28	460 "	375 "	420 "	— 85 "

Um zu sehen, ob die Tiere nach überstandener Infektion eine Immunität gegen Paratyphusbakterien aufwiesen, gab ich ihnen 14 Tage nach der ersten Injektion Bakterien desselben Stammes, aber in größeren Dosen; die mit $1/1000$ Oese vorbehandelten Meerschweinchen erhielten $1/2$, die mit $1/100$ Oese vorbehandelten 1 Oese und die mit $1/10$ Oese vorbehandelten 3 Oesen einer 18-stündigen Agarkultur intraperitoneal.

Tabelle 10.

Meerschweinchen-No.	St.-No.	Menge der Bakterien bei der		Temperatur- schwankungen (Grenzwerte)	Gewichtsschwankungen
		1. Injektion	2. Injektion		
29 (Kontr.)	4	—	1 Oese	36,9—39,7 2,8	— 40 g
30 (Kontr.)	18	—	1 "	36,6—39,0 2,4	— 60 "
23	18	$1/1000$ Oese	$1/2$ "	37,2—39,2 2,0	— 35 "
24	4	$1/1000$ "	$1/2$ "	37,1—39,0 1,9	— 25 "
25	18	$1/1000$ "	1 "	37,1—38,8 1,7	— 20 "
26	4	$1/100$ "	1 "	37,3—39,1 1,8	— 15 "
27	18	$1/100$ "	3 Oesen	37,3—38,8 1,5	—
28	4	$1/10$ "	3 "	37,1—38,5 1,4	— 20 g

Sämtliche Tiere blieben am Leben. Tabelle 10 zeigt, daß die Meerschweinchen, denen ich bei der zweiten Injektion $1/2$ Oese injizierte, größere Temperatur- und Gewichtsschwankungen zeigten, als das bei den mit 1 Oese behandelten Tieren der Fall war, und diese wiederum wiesen größere Schwankungen auf als die mit 3 Oesen infizierten. Zur Erklärung

dieser scheinbar paradoxen Reaktion kann man daran denken, daß die Tiere, welchen ich $\frac{1}{2}$ Oese injizierte, die 500-fache Menge der ersten Injektion erhielten, während den anderen Tieren nur die 100- resp. die 30-fache Menge gegeben wurde, daß also für die Schwankungen mehr die relative als die absolute Bakterienmenge ausschlaggebend ist.

Der Umstand, daß die beiden Kontrolltiere (Meersch. 29 und 30), denen 1 Oese injiziert wurde, die Infektion überstanden, läßt die Frage der Immunität beim ersten Blick in Zweifel ziehen. Sie wird jedoch sofort zugunsten der Immunität gelöst, wenn man die Schwankungen der Kontroll- und der vorbehandelten Tiere miteinander vergleicht; denn obwohl letztere teilweise die 3-fache Dosis erhielten, reagierten sie trotzdem mit weit geringeren Temperatur- und Gewichtsschwankungen sowie mit viel leichteren Krankheitserscheinungen als die Kontrolltiere (s. Tabelle 10). Ein ausschlaggebendes Kriterium jedoch lieferte die Widalsche Reaktion: Als nämlich 2 Meerschweinchen (Meersch. 23 und 27) interkurrent eingingen, agglutinierte ihr Blutserum die Paratyphusbakterien des bei der Injektion verwandten Stammes deutlich bis zu einer Verdünnung von 1 : 300.

Obwohl zu Beginn meiner Versuche 1 Oese Paratyphusbakterien, intraperitoneal gegeben, die Meerschweinchen in 16—20 Stunden (s. Tabelle 7) ad exitum brachte, überstanden jetzt ca. 8 Wochen später die Versuchstiere (s. Tabelle 10, Meersch. 29 und 30) die Injektion der gleichen Bakterienmenge desselben Stammes, ein Umstand, der eine Erklärung in der Annahme einer Abschwächung der Virulenz dieser Stämme findet. Um jedoch diese Annahme durch das Experiment zu erhärten, zog ich sechs weitere Meerschweinchen zum Versuch heran: Je zweien von ihnen injizierte ich 1 und je einem Tiere 2 Oesen desselben Stammes intraperitoneal. Da die Tiere die Injektion mit nur leichten Krankheitserscheinungen beantworteten und sich in 1 Woche wieder soweit erholt hatten, daß man ihnen nichts mehr anmerkte, so ist eine Abschwächung der Virulenz der von mir gewonnenen Stämme während der 2-monatlichen Fortzucht auf künstlichen Nährmedien außer Zweifel gestellt.

Als in der 3. Woche zwei der Tiere eingingen und mit dem Blutserum die Widalsche Reaktion angestellt wurde, agglutinierte das Serum die Bakterien der bei der Impfung verwandten Stämme bis zu einer Verdünnung von 1 : 100 resp. 1 : 200, das letztere Serum stammte von einem Tiere, welches 2 Oesen erhalten hatte. Die Sektion der nicht abgemagerten Tiere ergab eine auf Leber und Milz beschränkte eitrige Peritonitis, vergrößerte Milz, die ebenso wie die Leber von stecknadelkopfgroßen Knötchen durchsetzt war, im Abdomen befand sich ein geringes klares Exsudat. Von den Querschnitten der parenchymatösen Organe konnten ebensowenig Paratyphusbakterien gezüchtet werden wie aus dem Herzblute und dem Exsudat der Bauchhöhle.

Erwähnt sei noch, daß am Ende meiner Versuche Kaninchenparatyphusimmunserum Titer 1 : 1000 die Paratyphusbakterien noch in denselben Verdünnungen agglutinierte wie zu Beginn meiner Experimente.

Ueerblicken wir die vorliegende Arbeit, so kann man zusammenfassend sagen:

1) Von den im Frühjahr 1912 festgestellten Paratyphusbakterien-trägerinnen scheiden nach meinen Untersuchungen im Frühjahr 1913 noch 5 Personen vermehrungsfähige Paratyphusbakterien aus; die Frage

jedoch, ob sich unter den elf anderen Patientinnen auch noch Ausscheiderinnen befinden, oder ob bei diesen in allen Fällen eine bakteriologische Genesung vorliegt, muß bei der innerhalb von 9 Wochen 4mal negativ verlaufenen Stuhluntersuchung zur Beantwortung noch offen gelassen werden.

2) Auf Grund des positiven Befundes im Rizinusstuhl von 2 Personen, deren normale Stühle ich teils zuvor teils nachher resultatlos untersuchte, glaube ich in Uebereinstimmung mit den Arbeiten anderer Untersucher bei anderen Krankheiten auch für den Paratyphus die Möglichkeit eines günstigen Einflusses von Abführmitteln auf den Nachweis von Paratyphusbakterien im Stuhle nicht von der Hand weisen zu dürfen.

3) Die vielfach übliche Methode, nach 2—3maliger negativer Stuhluntersuchung eine bakteriologische Genesung anzunehmen, halte ich für unzulänglich, vielmehr halte ich es für voll berechtigt, die bakteriologische Kontrolle auf 1 Jahr auszudehnen.

4) Die von mir isolierten Paratyphusbakterien sind, da sie selbst bei einer längere Zeit fortgesetzten massenhaften Einverleibung weder mit dem Futter noch mit der Sonde den Tod der Versuchstiere herbeizuführen vermochten, vom Darmtraktus aus als nicht pathogen für Meerschweinchen anzusehen.

5) Bei diesen Stämmen kann, da selbst 2 Oesen einer abgetöteten Kultur intraperitoneal gegeben nur geringe Erscheinungen hervorriefen, eine starke Toxinbildung nicht in Betracht gezogen werden.

6) Die intraperitoneal gegebenen lebenden Paratyphusbakterien veranlaßten dahingegen schon in einer Dosis von 2 mg eine in kurzem tödlich verlaufende Septikämie der Tiere.

7) Die gleiche und sogar die doppelte Bakterienmenge derselben Stämme nach einer 2-monatlichen Fortzüchtung auf künstlichen Nährmedien übte jedoch nur eine geringe pathogene Wirkung aus. Die Stämme haben also in der Zwischenzeit von 2 Monaten einen erheblichen Teil ihrer Virulenz eingebüßt.

8) Die injizierten Paratyphusbakterien riefen bei den Versuchstieren eine nicht unerhebliche Immunität hervor.

Literatur.

- 1) Andrejew, Untersuchungen über die bakterielle Flora des Hammeldarmes auf das Vorkommen von Bakterien der Hog-Cholera-Gruppe. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. p. 363.)
- 2) Aumann, Ueber Befunde von Bakterien der Paratyphusgruppe, mit besonderer Berücksichtigung der Ubiquitätsfrage. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 57. H. 4.)
- 3) Brückner, Ueber Nachuntersuchungen bei Personen, die vor Jahren Typhus durchgemacht hatten. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. p. 435.)
- 4) Buday, K., Zur pathologischen Anatomie des Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 60. H. 5.)
- 5) Conradi, H., v. Drigalski u. Jürgens, Ueber eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende, durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. p. 141.)

- 6) v. Drigalski u. Conradi, H., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38. p. 283.)
- 7) Fischer, B., Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. p. 447.)
- 8) —, Briefliche Mitteilungen.
- 9) Fraenkel, E. u. Much, H., Ueber experimentelle Cholecystitis, zugleich ein Beitrag zur Pathogenität des *Bacterium paratyphi* B. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911.)
- 10) Gärtner, A., Ueber die Fleischvergiftungen in Frankenhausen a. K.
- 11) Gaffky, Zur Aetiologie des Abdominaltyphus. (Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1884. p. 372.)
- 12) Gonzenbach u. Klinger, Ueber eine Fleischvergiftungsepidemie, bedingt durch den Genuß verschiedener Fleischwaren. (Arch. f. Hyg. Bd. 73. 1911.)
- 13) Horn, A. u. Huber, E., Ein Beitrag zur Bakterienflora des Darmes gesunder, erwachsener Rinder, mit besonderer Berücksichtigung der Paratyphus-B-ähnlichen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61.)
- 14) Huber, E., Die Paratyphus-B-ähnlichen Bakterien des Pferdedarmes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. H. 1.)
- 15) Hübener, Die Bakterien der Paratyphus- und Gärtner-Gruppe in ihren Beziehungen zur Menschen- und Tierpathologie. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. 43. H. 2.)
- 16) Jacobitz u. Kayser, H., Ueber bakterielle Nahrungsmittelvergiftungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. H. 4.)
- 17) Kersten, Ueber die Haltbarkeit der Diphtherie- und Paratyphusbacillen in der Milch. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. p. 341.)
- 18) Komma, F., Ueber den Nachweis der Paratyphusbakterien in Wurstwaren und seine Verwertbarkeit für die Nahrungsmittelkontrolle. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 55. H. 1.)
- 19) Korte, W., Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. p. 243.)
- 20) Kutscher, K. H., Paratyphus. (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Ergänzungsbd.)
- 21) Matthes, Wollenweber u. Dorsch, Eine Fleischvergiftungsepidemie im Regierungsbezirk Arnsberg. (Klin. Jahrb. Bd. 26. H. 3.)
- 22) Mayer, G., Ueber Typhus, Paratyphus und deren Bekämpfung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. H. 3.)
- 23) Quadflieg, L., Paratyphusbacillenbefund bei einer Fleischvergiftungsepidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 72. H. 3.)
- 24) Rimpau, Der Paratyphus in der organisierten Typhusbekämpfung. Denkschrift über die seit dem Jahre 1903 unter Mitwirkung des Reiches erfolgte systematische Typhusbekämpfung im Südwesten Deutschlands. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 41. 1912.)
- 25) —, Beitrag zur Frage der Verbreitung der Bakterien der Paratyphusgruppe. (Ibid. Bd. 30. p. 330.)
- 26) Schern, K., Ueber Bakterien der Paratyphusgruppe und ihre Beurteilung vom hygienischen Standpunkt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1912.)
- 27) —, Ueber das Verhalten verschiedener Stämme des *Bac. paratyphosus* B und des *Bac. enteritidis* Gärtner in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. p. 387.)
- 28) Schöne, Ch., Ueber Infektionen mit Paratyphusbakterien des Typus A und Befunde von verwandten Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65.)
- 29) Schweinburg, Fr., Zur Epidemiologie und Aetiologie paratyphöser Infektionen. (Das Oesterr. Sanitätsw. Jg. 24. No. 29 u. 30.)
- 30) Titze u. Weichel, Untersuchungen über Kälberruhr. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. p. 516.)
- 31) Trautmann, Ueber Massenausbreitung von *Bact. enteritidis* Gärtner. (Arch. f. Hyg. Bd. 76. p. 206.)
- 32) Uhlenhuth, Hübener, Xylander u. Bohtz, Weitere Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest, mit besonderer Berücksichtigung der Bakteriologie der Hogcholera-(Paratyphus B)-Gruppe sowie ihr Vorkommen in der Außenwelt. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. p. 217.)
- 33) Weber u. Haendel, Paratyphus und paratyphusähnliche Bakterien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verbreitung in der Außenwelt, und ihrer Beziehungen zu Mensch und Tier. (Berlin. klin. Wochenschr. Jg. 49. No. 47.)

- 34) Zweifel, E., Bakteriologische Untersuchungen von rohem Hackfleisch, mit besonderer Berücksichtigung der Bacillen der Paratyphusgruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 58. H. 2.)
- 35) Zwick u. Weichel, Zur Frage des Vorkommens von sogenannten Fleischvergiftungserregern in Pökelfleischwaren. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. p. 250.)

Nachdruck verboten.

Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel.
Direktor: Geh.Med.-Rat Prof. B. Fischer.]

Von Dr. Gerhard Wagner,

Assistenten am Untersuchungsamte für ansteckende Krankheiten.

Mit 21 Textfiguren.

I.

Die Fähigkeit, gewisse Kohlenhydrate, namentlich Traubenzucker, unter Gasbildung zu zersetzen, gilt neben der Agglutination als ein Hauptunterscheidungsmerkmal, das innerhalb der Familie der Typhoideen die Paratyphus-Enteritis-Gruppe scharf von der Typhus-Ruhr-Gruppe trennt.

Neuerdings ist diese Scheidewand mehrfach durchbrochen worden.

Bainbridge verfügte über einen Stamm *Aertrycke*, der Gas nicht zu bilden vermochte. Penfold gelang es, auf Agar, dem Chloressigsäure zugesetzt war, Stämme von *Bact. enteritidis* Gärtner, *Bact. paratyphi* B, *Bact. Grünthal* und *Bact. coli* zu züchten. Es wurde diesen Stämmen durch fortgesetzte Einwirkung der Chloressigsäure die Fähigkeit, Gas zu bilden, künstlich abgewöhnt.

Loewenthal und Seligmann beobachteten, wie ein 1908 gefundener Erreger einer Fleischvergiftungsepidemie „Müggelsee“ nach mehrjähriger Fortzüchtung auf Agar neben dem regelrechten Stamm eine Abart lieferte, die aus Traubenzucker kein Gas mehr zu bilden vermochte und auch durch Tierpassage diese Eigenschaft nicht wiedergewann. Wenn die genannten Forscher diesen Vorgang den obigen Versuchen Penfolds insofern gegenüberstellen, als ihr Stamm trotz optimaler Bedingungen diese Einbuße an seinen gewöhnlichen Fähigkeiten erlitten habe, so kann man einwenden, daß jahrelange Züchtung auf künstlichen Nährböden für einen Krankheitserreger durchaus nicht den besten Lebensbedingungen gleichkommt. Immerhin aber dürfte von den im Nähragar enthaltenen Stoffen eine so starke Beeinflussung wie von der Chloressigsäure bei Penfold nicht zu erwarten sein.

Einen Paratyphusstamm ohne Gasbildungsvermögen, der als solcher aus menschlichem Kote gezüchtet wurde, hat Oette beschrieben. Er züchtete aus dem Stuhle eines unter dem Bilde des Typhus erkrankten Landarbeiters den (in Bd. 68 p. 1 dieser Zeitschrift näher beschriebenen) Stamm „Risum Sohn“, einen bis auf das Fehlen der Gasbildungsfähigkeit regelrechten Paratyphus B, während ihm der Stuhl der ein wenig später erkrankten, anscheinend bei der Pflege infizierten Mutter einen gasbildenden Paratyphus B-Stamm „Risum-Mutter“ lieferte. Abgesehen von den verschiedenen Wachstumsbedingungen, unterscheiden sich die Fälle „Risum“ von dem Fall „Müggelsee“ durch die anders garteten Krankheitserscheinungen: Akute Fleischvergiftung bei „Müggelsee“, langdauernde Typhuserkrankung bei „Risum“.

Oette hat es abgelehnt, in seinem Stamm „Risum Sohn“ einen neuen Typus der Paratyphusbakterien zu sehen; andererseits aber hat er sich auch nicht damit begnügt, ihn nur als eine Variante des Paratyphus B zu betrachten, er hat vielmehr die Möglichkeit in Rechnung gezogen, daß dieser Stamm eine Zwischenstufe zwischen Typhus- und Paratyphusbakterien darstellt.

Da Reiner Müller in Typhuskolonien Tochterkolonien von Paratyphusbakterien festgestellt hat, ist diese Vorstellung an sich durchaus faßlich. Eine weitere Stütze für eine solche Hypothese aber scheint mir eine Beobachtung darzustellen, die ich im November 1912 im Kieler bakteriologischen Untersuchungsamte machen konnte.

Ich fand in der eingesandten Blutprobe einer Kranken **gleichzeitig Bact. typhi und Bact. Paratyphi B ohne Gasbildungsvermögen, sowie 6 Tage später** in einer neuen Blutprobe derselben Patientin ein **regelrechtes Bact. paratyphi B.**

Krankengeschichte: 44-jährige Arbeiterfrau wird nach einer im August 1912 plötzlich eintretenden vaginalen Blutung bettlägerig; seit dieser Zeit, d. h. etwa 3 Monate, kränkt sie unter unbestimmten Symptomen, namentlich Schmerzen im Leibe. Wegen zunehmender Hinfälligkeit erfolgt ihre Aufnahme in die Kieler medizinische Klinik.

Die erste serologische und kulturelle Blutuntersuchung im hygienischen Institut bleibt ergebnislos. Wiederholung derselben nach 6 Tagen. Widalsche Reaktion wiederum negativ. Dagegen zeigt sich nach Verreibung des Blutkuchens auf einer großen Drigalski-Platte (nach Reiner Müller und H. Gräf) die letztere nach eintägiger Bebrütung dicht bewachsen mit bläulichen durchsichtigen Kolonien. Da infolgedessen Einzelkolonien nicht vorhanden sind, wird zur weiteren Untersuchung eine zweite, durch Anreicherung des Blutkuchenrestes in Galle und spätere Aussaat gewonnene Drigalski-Platte verwendet.

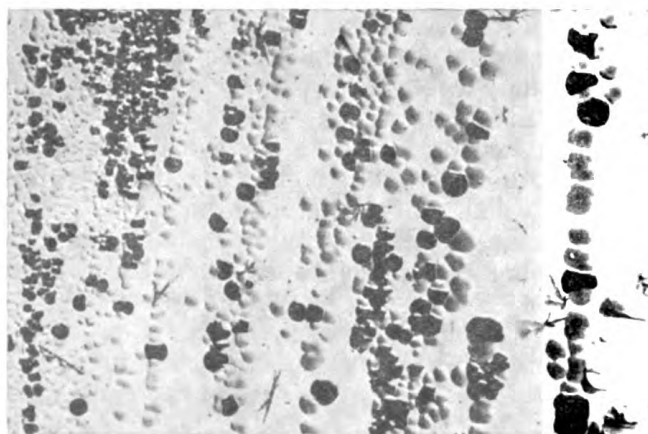


Fig. 1. Typhus- und (gaslose) Paratyphus-B-Kolonien auf einer Drigalski-Conradi-Platte (aus Blut in Galle angereichert). Die Paratyphus-Kolonien sind weniger durchsichtig, daher dunkler. Durchfallendes Licht, doppelte Vergrößerung.

Diese zeigt etwa 200 gut isolierte Kolonien; unter ihnen sind, wie sich namentlich am 2. Tage deutlich zeigt, zwei Sorten vertreten, einmal wasserklare, gut durchsichtige, und zweitens schleimigere und daher weniger durchscheinende Kolonien. Die Abbildung 1 zeigt einen Ausschnitt aus dieser Platte. Die nicht orthochromatische photographische Platte hat den Unterschied im Farbton vielleicht etwas übertrieben.

Die weitere Prüfung beider Sorten ergab auf den gebräuchlichen Nährböden Gleichheit der chemischen Leistungen, insbesondere bildeten beide kein Gas aus Traubenzucker. Serologisch aber bestand ein

starker Gegensatz: während die durchsichtige Sorte von einem Typhus-immunserum bis zum Endtiter agglutiniert wurde, taten die anderen das nicht, sondern wurden nur von einem Paratyphusserum, von diesem aber bis zum Endtiter agglutiniert.

Aus einer mit Rücksicht auf diesen seltsamen Befund erbetenen und 6 Tage später entnommenen Blutprobe wurden — und zwar durch Verreibung des Blutgerinnsels — nur noch 4 Kolonien gezüchtet, die sich als regelrechte Paratyphus B-Bakterien, also mit Gasbildungsvermögen, erwiesen. Damit war die bakteriologische Ausbeute des Falles erschöpft. 4 weitere Blutuntersuchungen in etwa einwöchentlicher Folge blieben kulturell ergebnislos, ebenso wie zahlreiche Stuhl- und Urinproben keine Typhuserreger enthielten. Die Agglutinationsversuche nach Widal gaben niemals einen über 1:50 hinausgehenden positiven Befund, auch nicht mit den frisch isolierten Stämmen. Klinisch war das Bild des Typhus abdominalis in dieser Zeit kaum vorhanden; es traten vielmehr später Symptome für einen Abszeß in der Nierengegend in den Vordergrund, die schließlich zur Operation führten. Es wurde am 13. Dezbr. 1912 ein paranephritischer Abszeß gefunden und 1½ l Eiter entleert. Im Ausstrich fanden sich massenhaft gramnegative Stäbchen, sowie Streptokokken. Alle aëroben Kulturen blieben steril, auch nach Anreicherung in Galle und Brühe. Tierimpfungen blieben ergebnislos. Dagegen wurden in hoher Schicht die Streptokokken gezüchtet; sie wuchsen nur anaërob. Man kann also annehmen, daß die gesehenen Stäbchen, die ganz wie Typhuserreger aussahen, nicht mehr lebensfähig waren.

Aus der weiteren Krankengeschichte ist hervorzuheben, daß trotz Entfieberung und guter Wundheilung die Rekonvaleszenz unbefriedigend verlief und die Patientin schließlich auf ihren Wunsch in schlechtem Allgemeinzustand in ihre Heimat entlassen wurde.

Ein Zusammenhang mit den von Oette mitgeteilten „Risum“-Fällen besteht nicht.

Der Krankheitsverlauf dürfte als posttyphöser Abszeß mit gelegentlichem Wiederauftreten der Typhuserreger im Blute — vielleicht von dem als Depot wirkenden paranephritischen Abszeß aus — aufzufassen sein.

Bakteriologische Zusammenfassung.

Aus diesem klinisch nicht völlig geklärten Falle wurden aus dem Blute einer Kranken gezüchtet:

gleichzeitig { Bact. typhi,
 { Bact. paratyphi -- ohne Gasbildung;
6 Tage später Bact. paratyphi B.

Diese Stämme werden mit

„Kiel α“ (Typhus),
„Kiel β“ (Paratyphus B ohne Gas),
„Kiel γ“ (Paratyphus B)

bezeichnet.

II.

Während ich mit der Prüfung der genannten Stämme „Kiel α, β, γ“ beschäftigt war, fand ich wiederum einen Paratyphus B-Stamm ohne Gasbildungsfähigkeit, und zwar auch in einer Blutprobe. Auch hier ist die Möglichkeit, daß dieser Stamm aus einem regelrechten, d. h. mit den normalen vergärenden Eigenschaften ausgestatteten Bakterium hervorging, schon deswegen nicht von der Hand zu weisen, weil sich in einer anderen, kurz zuvor eingegangenen Blutprobe ein durchaus typischer Paratyphus B gefunden hatte: also Paratyphusbakterien mit und ohne Gasbildung beim gleichen Kranken.

Eine so eingehende vergleichende Prüfung, wie sie mit den 3 „Kiel“-Stämmen vorgenommen wurde — worüber später berichtet wird —, war in diesem aus dem Kieler Vorort Hassee stammenden Falle leider nicht möglich, da der zuerst gefundene, regelrechte Paratyphusstamm bereits vernichtet war, als der spätere Stamm ohne Gasbildung gefunden wurde. Letzterer verhält sich aber — wie schon jetzt vorausgeschickt sei — in allen Punkten durchaus so, wie die anderen beiden bisher bekannten Original-Paratyphusstämme ohne Gasbildung: „Risum-Sohn“ (Oette) und „Kiel β “.

Krankengeschichte zum Fall „Hassee“. 4 Jahre altes Mädchen erkrankt nach mehrtätiger Inkubation mit Kopf- und Leibschmerzen, sowie hohem Fieber (40°C), Leukopenie, positiver Diazoreaktion, Bronchitis. Das Ergebnis der zahlreichen bakteriologischen und serologischen Untersuchungen war folgendes:

- 3. Krankheitstag: Widal und Blutkultur negativ.
- 4. Krankheitstag: Stuhluntersuchung negativ.
- 9. Krankheitstag: Widal (mit Typhus- und Paratyphusbakterien) negativ. Blutkultur: Zahlreiche regelrechte Paratyphus-B-Kolonien.
- 17. Krankheitstag: Widal negativ. Blutkultur: mehrere paratyphusartige Kolonien, die Dextrose nicht vergären, Neutralrot nicht reduzieren, aber von einem Paratyphus B-Serum bis zum Endtiter agglutiniert werden, sowie nach 24-stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur Wallbildung zeigen.
- 25. Krankheitstag: Stuhluntersuchung negativ.
- 43. Krankheitstag: Stuhl- und Urinuntersuchung negativ.
- 45. Krankheitstag: Desgl.
- 46. Krankheitstag: Widal'sche Reaktion negativ; der gaslose Stamm wird vom eigenen Serum bis zur Verdünnung 1:30 agglutiniert. Blutkultur negativ.

Während der weitere klinische Verlauf einem leichtem Abdominaltyphus entsprach, muß das Ausbleiben der Agglutination, auch in den späteren Stadien der Krankheit, auffallen; ebenso der Umstand, daß aus dem Stuhl und Urin nie die Züchtung der Krankheitserreger gelang. Allerdings gelangte zwischen dem 4. und 43. Krankheitstage nur eine einzige derartige Probe zur Untersuchung.

Ein Zusammenhang mit den Fällen „Risum“ und „Kiel“ war nicht nachzuweisen; ebensowenig mit anderen typhösen Erkrankungen.

Bakteriologische Zusammenfassung.

Bei einem leichten Typhus werden am 9. Krankheitstage aus dem Blute regelrechte Paratyphus B-Bakterien, und am 17. ebensolche ohne Gasbildungsvermögen gezüchtet.

Der gaslose Stamm wird als Paratyphus „Hassee“ bezeichnet.

III.

Gleichzeitiges Vorkommen von Typhus und Paratyphus B im Blute ist ein bisher nur äußerst selten beobachtetes Ereignis. J. K. Beckers und L. Bitter teilten aus dem Kieler hygienischen Institut 1908 und 1910 je einen solchen Fall von „Mischinfektion“ mit. Seither sind im Kieler Untersuchungsamt am 22. Juli 1911, 1. April und 24. Mai 1913 drei weitere gleichartige Beobachtungen gemacht worden. Hierzu kommt ferner noch der Fall „Kiel“.

Seit Reiner Müller 1911 in zwei frisch aus dem Blute gezüchteten Typhuskolonien Tochterkolonien vom Paratyphus B entstehen sah, muß man mit der Möglichkeit rechnen, daß eine derartige Mutation auch im menschlichen Körper vor sich gehen kann.

Der Fall „Kiel“ dürfte diese Annahme insofern stützen, als mit geringem Zeitunterschied Typhus-, Paratyphus- und ferner noch ein nicht gasbildendes, seiner chemischen Leistungsfähigkeit nach dem Typhus ähnliches, durch die Agglutination aber als Paratyphus erwiesenes Bakterium gefunden wurde. Da letzteres gleichzeitig mit dem normalen

Typhusstamm im Blute vorhanden war, während der normale Paratyphusstamm B nur 6 Tage später allein und anscheinend nur in wenigen Exemplaren sich zeigte, so wäre die Vermutung berechtigt, daß der nicht gasbildende Stamm eine Zwischenstufe auf dem Wege vom Typhus zum Paratyphus darstellt.

Auch im Falle Oettes („Risum“) ist, wie gesagt, der gasbildende Stamm „Mutter“ wahrscheinlich aus dem gaslosen Stamm „Sohn“ entstanden; in meinem Falle „Hassee“ dagegen fand ich den gaslosen Stamm später als den Gasbildner. Die Tatsache, daß die gaslosen Stämme Penfolds, sowie Loewenthals und Seligmanns von Gasbildnern abstammen, hindert aber durchaus nicht, anzunehmen, daß auch umgekehrt aus gaslosen Stämmen Gasbildner entstehen könnten.

Es schien mir geboten, um das verwandtschaftliche Verhältnis der 3 Stämme „Kiel“ nach Möglichkeit zu klären, nicht nur die üblichen

1. Uebersicht der üblichen Kulturuntersuchungen.

	„Kiel“			„Hassee“ (gasloser Paratyphus B)
	α (Typhus)	β (gasloser Paratyphus B)	γ (Paratyphus B)	
Hängender Tropfen	lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich
Gelatine-Oberfläche (schw. Vergröß.)	weinblattartig	keine Aderung schleimig	keine Aderung schleimig	keine Aderung schleimig
Gelatinestich	keine Verflüssigung	keine Verflüssigung	keine Verflüssigung	keine Verflüssigung
Klatschpräparat von 18-stündigen Kulturen auf Gelatine	gramnegative, schlanke Kurzstäbchen	gramnegative, kürzere und plumpere Stäbchen	gramnegative, dickere und plumpere Stäbchen	gramnegative, dickere und plumpere Stäbchen
Bouillon	gleichmäßige Trübung	gleichmäßige Trübung	gleichmäßige Trübung	gleichmäßige Trübung
Milch	unverändert	langsame Aufhellung, keine Gerinnung	langsame Aufhellung, keine Gerinnung	langsame Aufhellung, keine Gerinnung
Neutralrot-Traubenzuckeragar	unverändert	unverändert ¹⁾	Gasbildung, Entfärbung	unverändert ¹⁾
Lackmuslaktoseagar	blau, durchsichtig, zart	blau, etwas üppiger	blau, etwas üppiger	blau, etwas üppiger
Endoagar	farblos, durchsichtig	farblos, üppiger	farblos, üppiger	farblos, üppiger
Malachitgrünagar (1:20000)	kein Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum
Indolbildung	negativ	negativ	negativ	negativ
Barsiekow-Milchzucker	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert
Barsiekow-Traubenzucker	Säurebildung und Gerinnung nach 6 Tagen ²⁾	Säurebildung, rasche Gerinnung	Säurebildung, rasche Gerinnung	Säurebildung, rasche Gerinnung
Blutagar	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse

1) Genaueres über die fehlende Entfärbung später unter „Entfärbung von Farbstoffen“.

2) Die Gerinnung tritt anscheinend bei manchen Typhusstämmen erst sehr spät ein; so zeigte der öfter zum Vergleich herangezogene Typhusstamm „Flensburg“ erst nach einer Woche Gerinnung, ebenso wie „Kiel α “, während 6 andere Typhusstämme sie innerhalb 24 Stunden bewirkten. Ueber Inkonzanz im Verhalten des Typhusbakteriums gegenüber dem Barsiekow-Traubenzucker berichtete auch kürzlich Ditthorn.

Differentialnährböden heranzuziehen, sondern auch von den bei der Mutationsforschung angewendeten Methoden Gebrauch zu machen. Zum Vergleich habe ich außer je einem regelrechten Laboratoriums-Typhus-, Paratyphus B- und Paratyphus A-Stamm, wo es angebracht schien, sämtliche mir zur Verfügung stehenden gaslosen Paratyphus-Stämme mit ihren Verwandten herangezogen, also den neu gefundenen Stamm „Hassee“, ferner „Risum-Sohn“ und „-Mutter“, schließlich den mir von Herrn Dr. Seligmann lebenswürdigerweise überlassenen Stamm „Müggelsee gaslos“ nebst „Müggelsee gasbildend“ und „Doppelstamm“.

2. Serologische Untersuchung.

Sobernheim und Seligmann haben auf Unterschiede aufmerksam gemacht, die sich im agglutininbildenden und agglutininbindenden Verhalten mancher Stämme ergeben. „Doppelstämme“ nannten sie solche Paratyphusstämme, die nur schwach von Paratyphusserum beeinflusst werden, stark dagegen von Gärtner-Serum; diesem agglutinatorischen Verhalten entspricht aber nicht das agglutinogene: Die Doppelstämme liefern ein Serum, das Gärtner- und Typhusbakterien gar nicht, Paratyphusbakterien mäßig, die Doppelstämme aber hoch beeinflusst.

Agglutininbindung.

	Kiel			„Hassee“ (gasloser Paratyphus B)
	α (Typhus)	β (gasloser Paratyphus B)	γ (Paratyphus B)	
Typhusserum Kaninchen Titer 1:2000	2000	100	0	200
Paratyphus B-Serum Kaninchen Titer 1:2000	0	2000	2000	2000
Paratyphus A-Serum Kaninchen Titer 1:2000	0	0	0	100
Enteritis Gärtner-Serum Ziege Titer 1:2000	500	100	100	200
Enteritis Käsche-Breslau-Serum Ziege Titer 1:2000	0	2000	2000	2000
Serum „Risum-Sohn“ Titer 1:2000	500	2000	2000	2000

Die angegebenen Zahlen zeigen, in welcher Höhe die Sera die Stämme noch deutlich agglutinierten; die Ergebnisse wurden nach 4-stündigem Aufenthalt im Brutschrank mit unbewaffnetem Auge abgelesen. Die Zahl 0 bedeutet, daß der betreffende Stamm von der Serumverdünnung 1:100 nicht agglutiniert wurde.

Die Agglutininbindung ergab also, daß „Kiel α “ dem Typhuserreger entspricht, während die übrigen zur Paratyphus B-Gruppe gehören.

Agglutininbildung.

Zur Serumgewinnung wurden Kaninchen benutzt, die mit bei 65° abgetöteten Kulturen der Stämme „Kiel α , β , γ “ behandelt wurden. Ein „Hassee“-Serum ist nicht hergestellt worden.

Diese Sera zeigten ein auffälliges Verhalten, insofern die Sera β und γ bei wiederholter Prüfung den Stamm α und ebenso den Kontrolltyphusstamm Flensburg höher agglutinierten, als den eigenen (Paratyphus-)Stamm und den Kontrollparatyphus B-Stamm, wie folgende Übersicht zeigt:

	„Kiel“			Kontrollstämmen		
	α	β	γ	Typhus „Flensburg“	Paratyphus B	Paratyphus A
Serum Kiel α	5 000	100	100	5000	100	100
„ „ β	5 000	2000	2000	5000	500	500
„ „ γ	10 000	200	1500	1500	500	1500

Nach 4 Monaten immunisierte ich nochmals eine Serie Kaninchen mit den genannten 3 Stämmen, erhielt aber diesmal streng spezifische Sera nach folgender Tabelle:

	„Kiel“			Kontrollstämmen		
	α	β	γ	Typhus „Flensburg“	Paratyphus B	Paratyphus A
Serum Kiel α_2	20 000	100	500	20 000	500	0
„ „ β_2	100	7500	10 000	500	10 000	0
„ „ γ_2	100	4000	2 000	100	2 000	100

Mit der weiteren Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden haben also die agglutininbildenden Fähigkeiten eine Einschränkung im Sinne schärferer Spezifität erfahren. Es erscheint mir wahrscheinlich, daß die starke Bildung von Mitagglutininen durch die Stämme „Kiel β und γ “ in bezug auf den Stamm α als Zeichen verwandtschaftlicher Beziehungen der erstgenannten zu letzterem zu gelten haben.

3. Säureagglutination.

Die von Leonor Michaelis angegebene Agglutination gewisser Bakterienarten durch Säuren in dem Sinne, daß das Agglutinationsoptimum bei einem bestimmten Säuregrade — gemessen durch die Wasserstoffionenkonzentration $[H^+]$ — liegt, ist für die Typhusdiagnose ein besonders brauchbares Hilfsmittel, da Kolonbakterien überhaupt nicht agglutiniert werden.

Bact. typhi hat das Agglutinationsoptimum im Durchschnitt bei $[H^+] = 8 \cdot 10^{-5}$, *Bact. Paratyphi B* dagegen bei $[H^+] = 16-32 \cdot 10^{-5}$.

Für die hier beschriebenen Stämme fand ich folgende Werte:

Agglutinationsoptimum von „Kiel α “ bei $H = 8 \cdot 10^{-5}$
 „ „Kiel β “ „ $H = 32 \cdot 10^{-5}$
 „ „Kiel γ “ „ $H = 32 \cdot 10^{-5}$
 „ „Hassee“ „ $H = 32 \cdot 10^{-5}$

Die gaslosen Stämme „Kiel β “ und „Hassee“ wären danach ebenso wie der gasbildende Stamm γ als Paratyphus B, α als Typhus zu bezeichnen.

4. Tierpathogenität.

Alle Stämme erwiesen sich als pathogen für Meerschweinchen; die kleinste tödliche Menge betrug für Tiere von 300—350 g Gewicht für

„Kiel α “: etwa 1 Oese
 „Kiel β “: „ $\frac{1}{200}$ „
 „Kiel γ “: „ $\frac{1}{200}$ „
 „Hassee“: „ $\frac{1}{100}$ „

Diese Ergebnisse entsprechen den bei Typhus und Paratyphus B üblichen Befunden.

5. Säure- und Gasbildung.

Zur genaueren Untersuchung der Säure- und Gasbildung ist am Kieler Institut eine Serie im Gebrauch, die aus einer Anzahl von Alkoholen und Kohlenhydraten sich zusammensetzt.

Ich bediente mich anfänglich der Methode, einem Drigalski-Conradischen Nährboden an Stelle des Milchzuckers die betreffenden Stoffe in einprozentiger Menge zuzusetzen und dann an Oberflächenkolonien von etwa 1 qcm Fläche die Säurebildung und in Röhrchen die Gasbildung zu prüfen. Im Laufe dieser Untersuchungen bin ich aber zu einem anderen Verfahren übergegangen, das in erster Linie den Vorteil bietet, Säure- und Gasbildung gleichzeitig an einer Probe erkennen zu können. Ich wählte das von Ludwig Bitter als Säureindikator für bakteriologische Zwecke empfohlene Chinablau; ich setzte es einer mit 1 Proz. des betreffenden Stoffes versetzten Nährbouillon zu. Ich verwendete ferner Gärröhrchen derart, daß ich kurze dünne Röhrchen umgekehrt in ein wenig größere, mit der Brühe gefüllte einsetzte, wobei natürlich keine Luftblase in dem inneren Röhrchen bleiben darf, was sich bei einiger Uebung erreichen läßt. Wählt man dazu sehr kleine Röhrchen, so kann man schon mit 2 ccm Brühe, die also nur 0,02 des zu vergärenden Stoffes enthält auskommen; denn manche dieser Stoffe sind sehr teuer. Der Farbenumschlag von der kaum gefärbten neutralen Bouillon — man nimmt am besten nach Ludwig Bitters Vorgang 5 Tropfen einer gesättigten wässrigen Chinablau-Lösung auf 100 ccm Brühe — zu dem prachtvollen Blau nach erfolgter Säuerung gibt einen weit stärkeren Gegensatz als der Lackmusumschlag. Namentlich wenn man, wie es später geschehen ist, Unterschiede in der Säurebildung photographisch festhalten will, ist das wertvoll. Schließlich empfehlen sich diese Gärröhrchen dadurch, daß man gleichzeitig die Menge des gebildeten Gases, wie auch Penfold es tat, abschätzen kann.

Die Säure- und Gasbildung aus den Stoffen der oben erwähnten Serie zeigt die nachstehende Tabelle. Zum Vergleich sind Typhus „Flensburg“, ein Paratyphus B- und ein Paratyphus A-Stamm herangezogen; die Ergebnisse wurden nach 48 Stunden abgelesen.

- bedeutet Säurebildung.
 ■ bedeutet Säure- und Gasbildung.
 — bedeutet weder Säure- noch Gasbildung.

	„Kiel“			„Hassee“ (gaslos)	Typhus „Flensburg“	Para- typhus B	Para- typhus A
	α (Typhus)	β (gaslos)	γ Para- typhus B				
Glyzerin	□	□	□	□	□	□	□
Erythrit	—	—	—	—	—	—	—
Arabinose	—	□	■	□	—	■	■
Mannit	□	□	■	□	□	■	■
Adonit	—	—	—	—	—	—	—
Dulzit	—	□	■	□	—	■	■
Rhamnose	—	□	■	□	—	■	■
Dextrose	□	□	■	□	□	■	■
Galaktose	□	□	■	□	□	■	■
Mannose	□	□	■	□	□	■	■
Lävulose	□	□	■	□	□	■	■
Maltose	□	□	■	□	□	■	■
Laktose	—	—	—	—	—	—	—
Saccharose	—	—	—	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—	—	—	—
Dextrin	□	□	■	□	□	■	■

Hinsichtlich der Säurebildung verhielten sich also die gaslosen Stämme „Kiel β“ und „Hassee“ wie Paratyphusstämmen, d. h. sie bildeten Säure auch aus Arabinose, Dulzit und Rhamnose im Gegensatz zum Typhus und dementsprechend auch zu „Kiel α“. Dagegen vermochten

sie nirgends Gas zu bilden; sie stehen also in dieser Hinsicht auf der gleichen Stufe wie das *Bact. typhi*.

Genau so hatte sich Oettes Stamm „Risum“ verhalten.

Ich habe bei dieser Gelegenheit noch einige andere Stoffe auf Säure- und Gasbildung geprüft; in erster Linie zwei Glykoside, die mir gerade zu Verfügung standen, Salizin und Senegin. Von Senegin glaubte ich insofern wertvolle Ergebnisse erwarten zu dürfen, als Twort gelegentlich einer Prüfung vieler Glykoside bei Einwirkung von Stämmen der Typhus-Coli-Gruppe gefunden hat, daß *Bact. paratyphi* Schottmüller hier Säure und Gas bildet, während Paratyphus-A und *Bact. enteritidis* Gärtner nur Säure bilden; die Beobachtungszeit erstreckte sich allerdings auf über 4 Wochen.

Ich zog zu diesen Versuchen außer den in der obigen Tabelle genannten noch die 3 „Müggelsee“-Stämme, die beiden „Risum“-Stämme, sowie ein aus Urin gezüchtetes *Bact. coli* heran.

Salizin wurde von keinem Stamm angegriffen, wobei ich mich in Uebereinstimmung mit Twort befinde.

Senegin wurde zwar von allen Stämmen ein wenig gesäuert, dagegen habe ich eine Gasbildung nicht beobachten können, auch bei den regelrechten Paratyphusstämmen nicht.

C. Neuberg und seine Mitarbeiter haben neuerdings unter der Bezeichnung **zuckerfreie Gärung** die Tatsache festgestellt, daß auch Stoffe, die nicht zu den Kohlenhydraten gehören, mit bestimmten Heferassen in eine Art Gärung geraten, wobei als Gas hauptsächlich CO_2 gebildet wurde. Ausgegangen ist Neuberg von der Brenztraubensäure, die zwar als solche nicht von der Hefe vergoren wird; wohl aber werden es ihre löslichen Alkali- und Erdalkalisalze. (Vielleicht ist die Hefe in dem durch die freie Säure allzu sauren Nährmedium nicht gewachsen?)

Es lag nahe, auch die Stämme der Typhus-Coli-Gruppe mit Brenztraubensäure zu prüfen.

Ich setzte davon 1 Proz. einer Nährbouillon zu, neutralisierte mit Sodalösung, wobei brenztraubensaures Natrium gebildet werden dürfte, und füllte diese Flüssigkeit — wie oben beschrieben — in Gärröhrchen. Schon nach 12 Stunden ergab sich, daß die regelrechten Paratyphusstämmen, also der Laboratoriumsstamm, „Risum-Mutter“, „Kiel γ “, ferner die Enteritiserreger vom Typus Gärtner und Breslau, die „Müggelsee“-Stämme „gasbildend“ und „Doppelstamm“ und schließlich der Coli-Stamm reichlich Gas bildeten; während die Typhusstämmen, und die gaslosen Paratyphusstämmen — also „Risum-Sohn“, „Müggelsee gaslos“, „Kiel β “ und „Hassee“ — dies nicht taten.

Man könnte also an Stelle der Dextrose ebensogut brenztraubensaures Natrium als Prüfstein für die Gasbildungsfähigkeit nehmen.

Man ist gewöhnt, das Zucker vergärende Enzym als etwas einheitliches anzusehen; wenn aber Zucker vergärende Mikroorganismen imstande sind, auch ohne Zucker einen Teil des Gärungsvorganges, nämlich die Gasbildung, darzustellen, so wird man vielleicht an Stelle des einen Enzyms deren mehrere annehmen müssen — in dem Sinne, daß eines aus Zucker bestimmte Säuren, dann ein zweites aus Säure Gas bildet. Reiner Müller hat im Anschluß an die Untersuchungen Oettes diesen Gedanken zuerst ausgesprochen.

Eine Mehrheit von Enzymen nimmt auch Penfold an, dem es gelang, das Gasbildungsvermögen von Angehörigen der Paratyphus-

Coli-Gruppe für Zuckerarten durch Züchtung auf Chloressigsäureagar stark abzuschwächen, während es für Alkohole stets unverändert blieb. Er schließt daraus, daß zwei verschiedene Enzyme zur Wirkung kommen.

Das Vorkommen von nicht Gas bildenden Paratyphusstämmen würde unter diesem Gesichtspunkte eher verständlich sein: Der Verlust eines besonderen Enzyms für die Gasbildung ist eher denkbar, als der nur teilweise Ausfall einer einheitlichen chemischen Leistung.

Ein besonderes Verhalten zeigten die gaslosen Stämme in **Dulzitbrühe** bei längerer Bebrütung.

Schon bei oberflächlichen Dulzitagarkolonien war es mir aufgefallen, daß nach einigen Tagen die säurebildenden Paratyphuskolonien wieder alkalische oder neutrale Reaktion zeigten, während die ebenfalls säurebildenden Kolonien der gaslosen Paratyphusstämmen stets sauer blieben. Bei genauerer Prüfung in Dulzitbrühe mit Chinablauzusatz zeigte sich, daß die gaslosen „Risum-Sohn“, „Kiel β “ und „Hassee“ schneller —

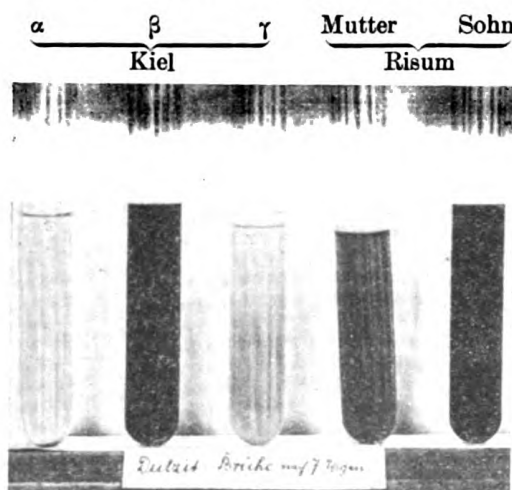


Fig. 2.

Fig. 2. Die „gaslosen“ Stämme sind in Chinablau-Dulzitbrühe nach 7 Tagen noch tiefblau. (Halbe Größe, orthochromatische Platte, Gelbscheibe.)

Fig. 3. Die Typhusstämmen „Flensburg“ und „Kiel α “ haben nach 4 Wochen die Dulzitbrühe stark gesäuert. (Halbe Größe, orthochromatische Platte, Gelbscheibe.)

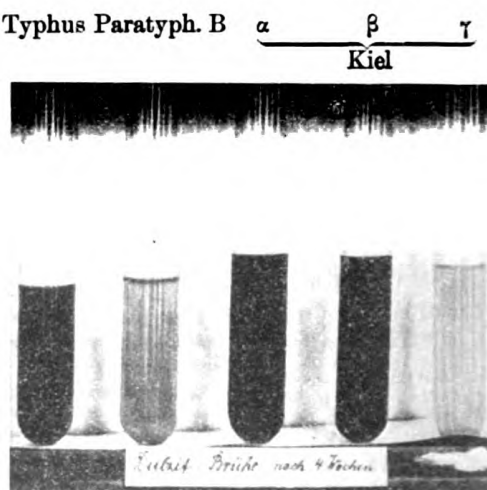


Fig. 3.

schon nach 6 Stunden wurde die Blaufärbung sichtbar — und stärker Säure bilden, als die übrigen Paratyphusstämmen. Läßt man die Röhrchen länger im Brutschrank, so tritt bei den regelrechten Paratyphusstämmen ein langsamer Rückgang der Blaufärbung ein, während bei den Gaslosen und auch beim Paratyphus A die starke Blaufärbung noch nach 4 Wochen erhalten war. Fig. 2 zeigt dies bei den „Kiel-“ und „Risum-“ Stämmen nach 7-tägiger Bebrütung: „Kiel β “ und „Risum Sohn“ sind tiefblau, „Kiel γ “ und Risum-Mutter dagegen nur noch blaßblau, „Kiel α “ als regelrechtes Typhusbakterium farblos.

Bei Aussaaten aus diesen Röhrchen fiel mir auf, daß die Zahl der Keime, die aus den noch blauen Röhrchen, also mit den Paratyphus B-Stämmen ohne Gasbildung und dem Paratyphus A, wuchsen, auffällig geringer war, als aus den wieder alkalisch gewordenen Paratyphus B-Röhrchen. Eine Keimzählung ergab, daß sich in dem ganz farblosen Röhrchen „Risum-Mutter“ 10000mal mehr Keime fanden, als im blauen

Röhrchen „Risum-Sohn“; das entsprechende Verhältnis bei „Kiel β “ zu „Kiel γ “ war 1:250 und bei dem Laboratoriumsparatyphus A zum Paratyphus B 1:300. Da man wohl annehmen muß, daß zunächst in allen Röhrchen eine einigermaßen gleichmäßige Entwicklung der eingebrachten Keime stattfindet, so wäre dieser Unterschied in den späteren Keimzahlen vielleicht so zu erklären, daß die regelrechten Paratyphen, nachdem sie aus Dulzit Säure und Gas gebildet haben, auch weiterhin noch die Säure abbauen und somit eine Weiterentwicklung ermöglichen können, während die „Gaslosen“ und der Paratyphus A diese Fähigkeit nicht haben und daher allmählich in der sauren Brühe absterben.

Ich konnte bei dieser Gelegenheit übrigens die von Penfold gefundene Tatsache bestätigen, daß Typhusbakterien im Gegensatz zu der allgemeinen Anschauung imstande sind, Dulzit anzugreifen — freilich erst nach längerem Aufenthalt im Brutschrank: durchschnittlich nach 9 Tagen. Die von mir benutzten Typhusstämmen „Flensburg“ und „Kiel α “ zeigten die Säurebildung nach etwa 10—14 Tagen, und zwar „Kiel α “ in stärkerem Maße als „Flensburg“. Fig. 3 zeigt deutlich an einer 4 Wochen alten Dulzitbrühe die blaue Färbung der entsprechenden Röhrchen; wie die vorhergehende Figur zeigt, war „Kiel α “ nach 7 Tagen noch völlig farblos gewesen. Auch der vorher erwähnte Rückschlag der regelrechten Paratyphen ins Farblose, sowie die anhaltende Blaufärbung der gaslosen Stämme ist durch Vergleich beider Bilder zu erkennen.

6. Entfärbung von Farbstoffen.

Die Entfärbung des Neutralrots ist bisher bei Typhusbakterien niemals, dagegen bei Paratyphusstämmen stets beobachtet worden. Wie aus der Tabelle auf p. 29 hervorgeht, zeigen aber „Hassee“ und „Kiel β “ im Rothbergerschen Neutralrottraubenzuckeragar nicht nur keine Gasbildung, sondern auch keine Entfärbung, während „Kiel γ “ als regelrechter Paratyphus B beide Eigenschaften zeigte. Oette hat über seinen gaslosen Stamm „Risum-Sohn“ in dieser Hinsicht nichts gesagt.

Daraufhin schien es mir geboten, eine genauere Prüfung vorzunehmen; ich verwendete dazu den Oldekopschen 0,3 Proz. Agar mit 1 Proz. Zusatz gesättigter Neutralrotlösung.

Während „Kiel β “ auch nach längerer Bebrütung keine Entfärbung zeigte, war das mit „Kiel γ “ beimpfte Röhrchen schon nach 16 Stunden deutlich gelb gefärbt, ebenso das Röhrchen „Risum-Mutter“. Entsprechend verhielten sich die Kontroll-Typhus- und Paratyphus B-Stämme; Paratyphus A entfärbte auch, aber nur langsam, nach etwa 72 Stunden. Dagegen trat bei „Risum-Sohn“, „Kiel β “ und „Hassee“ auch nach 14-tägiger Bebrütung keine Farbänderung ein. „Müggelsee gaslos“ zeigte vom 6. Tage ab eine geringe Fluoreszenz in den tieferen Teilen des Nährbodens, brachte es aber niemals zu einer wirklichen Entfärbung. Wenn man nicht annehmen will, daß die nach allgemeiner Ansicht auf Reduktion beruhende Entfärbung des Neutralrots mit der Gasbildung in irgendeinem ursächlichen Zusammenhange steht, muß man in der fehlenden Entfärbung ein weiteres selbständiges Merkmal der gaslosen Paratyphusstämmen sehen.

Ein Farbstoff, der auch vom *Bact. typhi* angegriffen werden soll, ist das von W. Buchholz geprüfte Orcein, das dieser in gleicher Weise wie das Neutralrot einem 0,5-proz. Agar zusetzte; nach seinen Untersuchungen wird dieser von *Bact. typhi* langsam, von Paratyphus B schnell, von Paratyphus A gar nicht entfärbt.

3*

Die „Gaslosen“ entfärbten auch diesen Nährboden nicht, während die dazu gehörigen Gasbildner schon nach 20 Stunden einen Umschlag des weinroten Nährbodens ins braungelbe zeigten. Eine Ausnahme machte der gaslose Müggelsee-Stamm: er brachte es — wenn auch erst nach 72 Stunden — zu einer wenn auch nicht sehr starken, so doch deutlichen Entfärbung.

Die Typhusstämme „Flensburg“ und „Kiel α “ ließen im Gegensatz zu den Resultaten von Buchholz das Orcein unverändert. Ein Vergleich mit 6 anderen frisch aus Blut isolierten Typhen ergab das gleiche.

Das abweichende Verhalten der gaslosen Paratyphusstämme geht aber trotz dieser Differenz zur Genüge hervor.

7. Spezifische Mutationen.

Reiner Müller hat 1908 als erster angegeben, daß die von ihm gefundene Bildung von Tochterkolonien auf gewissen Kohlenhydratnährböden für die Diagnose des betreffenden Bakteriums verwertbar sei; insbesondere gelte dieses neuartige diagnostische Prinzip für die Knopfbildung des *Bact. typhi* auf Rhamnose-(Isodulzit)-Agar.

Alle bisher bekannt gewordenen Nachprüfungen, die von Penfold, von Saisawa und auch meine eigenen, ergaben, daß jeder, auch längere Zeit fortgezüchtete, Stamm des *Bact. typhi* diese Rhamnosereaktion gibt, während sie bei den anderen Angehörigen der Typhus-, Paratyphus- und der Coli-Gruppe fehlt; sie tritt nur noch bei gewissen Bakterien der Ruhrgruppe auf. Man muß allerdings die Untersuchung nach 6–8 Tagen abschließen; denn auf alten Kulturen treten bisweilen auch ohne Zuckerzusatz zum Nährboden knopfartige Tochterkolonien auf, zum Beispiel auf Nährgelatine (Reiner Müller).

Aber auch der Knopfbildung des *Bact. Paratyphi B* auf Raffinoseagar kommt nach R. Müller eine ähnliche Bedeutung zu, insofern die kulturell sonst vom Paratyphus B nur durch die fehlende Wallbildung zu unterscheidenden Fleischvergifter vom Typus Breslau (Aertrycke) diese Eigenschaft nicht haben. Penfold hat die diagnostische Brauchbarkeit auch dieser Probe bestätigt, obwohl er auch einige Ausnahmen fand. Er gibt aber ebenso wenig wie Saisawa, der auch Ausnahmen feststellte, eine Erklärung dafür, daß sich die als gleich betrachteten Stämme gegenüber dem gleichen Reagens verschieden verhielten. Reiner Müller führt dies im wesentlichen darauf zurück, daß entgegen seiner ursprünglichen Annahme lange fortgezüchtete Stämme von Paratyphus- und Enteritiskulturen mutationsartig ihr Verhalten gegen die betreffende Zuckerart verändern können, was er bei seinen auf Gelatine weitergezüchteten Stämmen nicht beobachtet hatte. Daß das vorkommt, beweist die Fig. 6 bei Penfold, Journal of Hygiene, Vol. 12, No. 2, wo eine einzige Kolonie unter Hunderten sich abweichend — nur sie bildet nämlich Knöpfe — verhält. Ferner beweisen es die unten angeführten Untersuchungen der Müggelseestämme, bei denen sich ergab, daß der Ausgangsstamm — ein Fleischvergifter — die Raffinosereaktion nicht gab, der Doppelstamm nur schwach reagierte, während der gaslose Paratyphusstamm sich stark positiv verhielt (vgl. unten).

Dadurch wird aber der diagnostische Wert der Reaktion bei Züchtung von Stämmen aus Kranken kaum beeinflußt, ebenso wenig wie durch das Vorkommen gasloser Paratyphusstämme die Zuckervergärung zur Diagnose unbrauchbar wird.

Der Knopfbildung auf Dulzitar, die nach Penfold das *Bact. typhi* meist zeigt, hält dieser nicht für eine Mutation im strengen Sinne des Wortes, da die in der Knopfbildung zum Ausdruck kommende neue Eigenschaft, nämlich die Fähigkeit Dulzit zu säuern, beim Weiterzüchten auf Nährböden, die nicht Dulzit enthalten, verschwindet.

Penfold hat noch eine weitere Knopfbildung von allerdings beschränkt spezifischem Charakter gefunden, indem er Nähragar mit chloressigsäurem Natrium versetzte. Auf diesem Nährboden bilden alle der Paratyphus-Coli-Gruppe angehörigen Stämme Knöpfe im Gegensatz zum *Bact. typhi*.

Das Verhalten der untersuchten Stämme diesen Reaktionen gegenüber gestaltete sich folgendermaßen:

a) Auf Rhamnoseagar.

„Kiel α “ und Typhus „Flensburg“ zeigen auf Fig. 4 deutliche Knopfbildung, während „Kiel β “ und γ “ knopffrei sind. Auch „Hassee“ ist

kein Knopfbildner (fehlt auf der Figur), ebenso „Risum-Sohn“, wie Oette an Bildern gezeigt hat. „Kiel α “ ist also ein regelrechter Typhus.

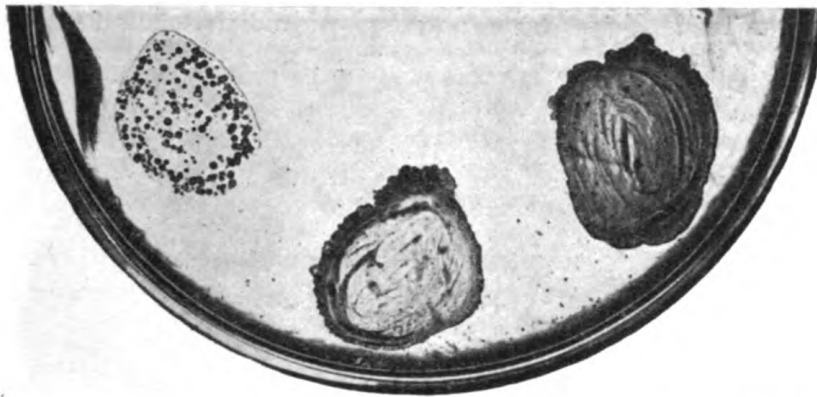


Fig. 4. Rhamnoseagar-Platte — 7 Tage alt — zeigt von links nach rechts „Kiel α , β und γ “. Nat. Größe, durchfallendes Licht.

b) Auf Raffinoseagar.

Fig. 5 zeigt die starke Knopfbildung von „Kiel β und γ “, während „Kiel α “ als regelrechter Typhus knopffrei ist, und unterscheiden sich also in dieser Hinsicht nicht von echten Paratyphusstämmen.

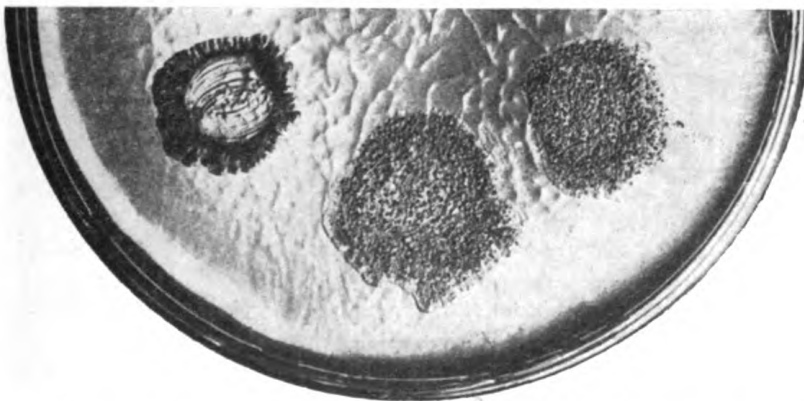


Fig. 5. Raffinoseagar-Platte (10 Tage alt) zeigt von links nach rechts „Kiel α , β und γ “. Nat. Größe, durchfallendes Licht.

Besonders interessant war das Verhalten der drei „Müggelsee“-Stämme.

Der ursprüngliche Fleischvergifter „Müggelsee gasbildend“ wird von Loewenthal und Seligmann als ein seiner Agglutination nach regelrechter Paratyphus B beschrieben; er würde also vermutlich von denen, die Fleischvergifter Breslau-Aertrycke und Paratyphus B trennen, zu ersterer Gruppe gerechnet worden sein, zumal ihm Wallbildung gefehlt haben soll. Nach vierjähriger Fortzüchtung konnten die genannten Forscher zwei Varianten abtrennen: einmal einen kulturell unveränderten, aber agglutinatorisch dem Enteritis Gärtner-Typus zuneigenden sogenannten „Doppelstamm“ und ferner einen agglutinatorisch unveränderten, aber durch fehlende Gasbildung ausgezeichneten Paratyphus B, der übrigens jetzt auch Wälle bildete.

Fig. 6—9 zeigen zunächst einen Laboratoriums-Breslau-Stamm: keine Spur einer Knopfbildung; bei „Müggelsee gasbildend“, also dem Ausgangsstamm, zeigt sich eine solche nicht oder höchstens in Spuren, bei dem „Doppelstamm“ sieht man vereinzelt kleine Knöpfe, bei dem gaslosen dagegen üppige Knopfbildung, wie bei frischen Paratyphus B-Stämmen.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

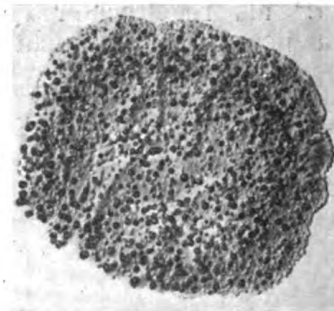


Fig. 9.

Fig. 6. Bact. enteritidis Breslau (Aertrycke)

Fig. 7. „Müggelsee gasbildend“

Fig. 8. „Müggelsee Doppelstamm“

Fig. 9. „Müggelsee gaslos“

} Auf einer Raffinoseagar-Platte
nach 14 Tagen. (Doppelte Größe.)

Ich möchte daraus den Schluß ziehen, daß sich der ursprüngliche „Müggelsee“-Stamm in einem besonders labilen Zustande befindet — das Gleiche sagen Loewenthal und Seligmann — wofür die angedeutete Knopfbildung spricht. Von dem Doppelstamm gilt das Gleiche, während der gaslose sich nicht nur durch die mangelnde Gasbildung von seinem ursprünglichen Typus unterscheidet, sondern auch durch seine Knopfbildung zeigt, daß er dem Paratyphus B im engeren Sinne zuzurechnen ist, was ja auch durch die Wallbildung bestätigt wird.

c) Auf Dulzitagar.

Nur „Kiel α“ und der als Kontrolle verwendete Typhus „Flensburg“ bildeten Knöpfe und zwar „Kiel α“, wie die Fig. 10 und 11 zeigt, bedeutend mehr als „Flensburg“. Dies dürfte in Parallele zu setzen sein

mit der oben erwähnten stärkeren Säuerung der Dulzitbrühe durch „Kiel α “.



Fig. 10.

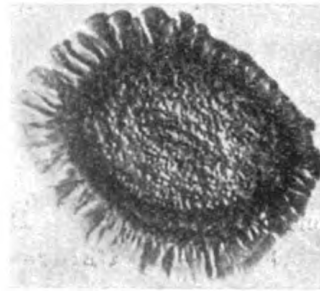


Fig. 11.

Fig. 10. Typhus „Flensburg“ } auf derselben Dulzitagar-Platte nach 14 Tagen.
Fig. 11. Typhus „Kiel α “ }

d) Auf Chloressigsäureagar.

Bei Herstellung dieses Agars ist zu beachten, daß nach Angabe Penfolds die Chloressigsäure durch Kochen zersetzt wird. Man muß daher die Chloressigsäurelösung mit Sodalösung neutralisieren, durch ein Berkefeld-Filter filtrieren und dann dem fertigen Nähragar in dem gewünschten Verhältnis — ich wählte eins auf Hundert — zusetzen.

Es zeigten sich Knöpfe bei allen im Versuch gewesenen Stämmen mit Ausnahme der Typhen „Flensburg“ und „Kiel α “ (vgl. Fig. 12—20). Auffällig wenig Knöpfe zeigte „Müggelsee-Doppelstamm“.

Man wird also mit Penfold der Knopfbildung auf Chloressigsäureagar einen gewissen diagnostischen Wert zuerkennen können.

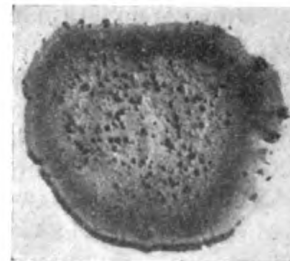
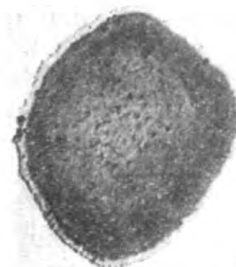
Fig. 12. „Kiel α “.Fig. 13. „Kiel β “.Fig. 14. „Kiel γ “

Fig. 15. Paratyphus B.

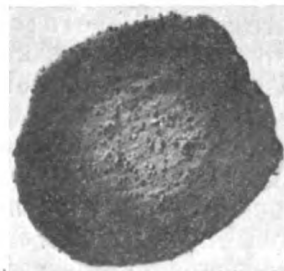


Fig. 16. Enter. Gaertner



Fig. 17. Paratyphus A.

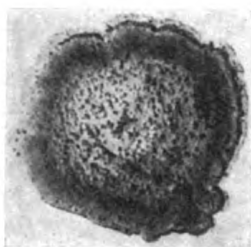


Fig. 18. „Müggelsee gasbildend“.



Fig. 19. „Müggelsee Doppelstamm“



Fig. 20. „Müggelsee gaslos“.

Fig. 12—20. Chloressigsäure-Agarplatte nach 10 Tagen.

8. Wallbildung.

Das schleimige Wachstum der Paratyphus B- und der Enteritis Gärtner-Bakterien auf Gelatine, also bei Zimmerwärme, ist schon vor Jahren von v. Drigalski und Bernhard Fischer beschrieben worden. R. Müller hat 1910 mitgeteilt, daß diese Eigenschaft allen frisch isolierten Paratyphus B- (im Gegensatz zu den Fleischvergiftern Breslau-Aertrycke) und Enteritis Gärtner-Bakterien zukommt, daß aber in älteren Kulturen sich eine nicht mehr wallbildende Mutationsform abzuspalten pflegt, die dann beim Weiterzüchten zuweilen ganz die Oberhand gewinnt (namentlich tritt das schnell beim Bact. enteritidis Gärtner ein), und daß sie ferner nur bei Zimmerwärme schleimig wachsen, so daß nach anfänglichem Wachstum bei Brutwärme eine weitere Beobachtung bei etwa 20° nötig ist; man erhält dann eine in der Mitte zart gewachsene Kolonie, die entsprechend dem Wachstum bei 20° von einem Schleimwall umrandet ist. Diese Wallbildung zeigen nur die Kolonien, die weit genug auseinander stehn, weil die dichter stehenden schon am zweiten Tage nicht mehr weiter wachsen.

Diese Wachstumseigentümlichkeit hat eine besondere Bedeutung gewonnen, da sie die Möglichkeit bietet, Paratyphus B-Bakterien von den Fleischvergiftern Breslau-Aertrycke zu unterscheiden. Weitere Unterscheidungsmerkmale — abgesehen vom klinischen Verlauf — wären noch: die stärkere Pathogenität der Fleischvergifter bei Verfütterung an Mäuse (B. Fischer), die erwähnte Knopfbildung auf Raffinoseagar (R. Müller) — fehlt dem Breslau-Typus — und die von englischen Autoren (Boycott, Bainbridge) angestellten Agglutininabsorptionsversuche. Alle diese Unterschiede haben sich noch nicht der allgemeinen Anerkennung zu erfreuen, insbesondere hat die Wallbildung sich als differential-diagnostisches Merkmal noch nicht durchsetzen können.

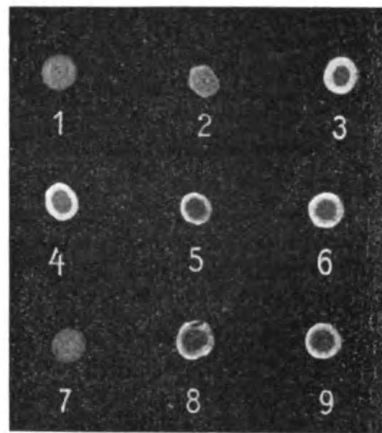
Sobernheim hat neuerdings wieder auf die umfassenden Untersuchungen von Kutscher und Meinicke hingewiesen, die eine Trennung von Paratyphus B und Enteritis-Breslau ablehnen. Diese haben sich aber nicht frisch isolierter Kulturen bedient und andererseits haben sie das schleimige Wachstum auf Gelatine nicht in den Kreis ihrer Betrachtungen gezogen — für die Frage der Wallbildung, deren Vorbedingungen zudem erst später von R. Müller klargelegt wurden, scheiden sie also völlig aus. Sobernheim hat ferner seinerseits den bilden, bei älteren Kulturen eintretenden Verlust der Fähigkeit, Wälle zu bilden, in den Vordergrund gestellt und daraus gefolgert, daß die Wallbildung zu einer eigentlichen biologischen Differenzierung der Paratyphusbacillen nicht ausreicht.

Wenn man aber bedenkt, daß alte Kulturen öfters auch in serologischer Beziehung schwerwiegende Eigenschaftsänderungen erfahren können — ein Abkömmling des Fleischvergifters „Müggelsee“ verlor in 4 Jahren die wesentliche Eigenschaft, von Paratyphusserum agglutiniert zu werden (Doppelstamm) — so kann man einwenden, daß ebensowenig wie durch diesen Verlust der Wert der Agglutination für die Differentialdiagnose in Frage gestellt wird, auch der spätere Verlust der Wallbildung gegen letztere ins Feld geführt werden darf.

Im Kieler Untersuchungsamte hat sich jedenfalls seit einer Reihe von Jahren die Wallbildung als spezifisch bewährt: ein frisch isolierter, auf Drigalski-Conradi-Agar blau wachsender, auf Malachitgrün-Agar gut gedeihender Wallbildner kann schon vor der Agglutination mit ziemlicher Sicherheit als Paratyphus B im engeren Sinne oder als *Bact. enteritidis* Gärtner angesehen werden.

Fig. 21. Wallbildung auf Agarplatte nach 14-stündigem Aufenthalt im Brutschrank und 24 Stunden bei 20—22°. Nat. Größe. Schräg durchfallendes Licht — Dunkelfeldbeleuchtung.

- 1 „Müggelsee gasbildend“
- 2 „Müggelsee Doppelstamm“
- 3 „Müggelsee gaslos“
- 4 „Risum Mutter“
- 5 „Risum Sohn“
- 6 „Hassee“
- 7 „Kiel α “
- 8 „Kiel β “
- 9 „Kiel γ “.



Die gaslosen Stämme „Kiel β “ und „Hassee“ bilden typische Wälle, ebenso der gasbildende „Kiel γ “-Stamm, „Kiel α “ als Typhusbakterium dagegen nicht. Auch beide Risum-Stämme hatten Wälle gebildet, wie Oette mitteilte. Hinsichtlich der Müggelsee-Stämme haben Loewenthal und Seligmann betont, daß „Müggelsee gaslos“ nach fünf Tagen auf der Agarplatte Schleimwälle bilde und dadurch kulturell gegenüber seinen beiden Verwandten, die ja Fleischvergifter waren, differenziert sei. Meine Nachprüfung ergab das Vorhandensein der Wallbildung, aber nicht erst nach 5 Tagen; dieselbe ist vielmehr ebenso wie sonst nach 14-stündiger Brutzeit bei 37° C und darauffolgendem Wachstum von 24 Stunden bei 20—22° C deutlich erkennbar. Fig. 21 zeigt das.

Zusammenfassung.

Es werden zwei bisher noch nicht bekannte Paratyphus B-Stämme ohne Gasbildungsvermögen beschrieben („Kiel β “ und „Hassee“) und mit den schon bekannten „Müggelsee gaslos“ und „Risum-Sohn“ vergleichend untersucht. Es zeigte sich eine fast völlige Uebereinstimmung derselben. Außer durch die fehlende Gasbildung unterscheiden sich „Risum-Sohn“, „Kiel β “ und „Hassee“ von regelrechten Paratyphus B-Stämmen durch die Unfähigkeit, gewisse Farbstoffe (Neutralrot, Orcein)

zu entfärben und das Nichtverschwinden der in Dulzitbrühe gebildeten Säure.

„Kiel β “ wurde gleichzeitig mit einem regelrechten Typhusstamm („Kiel α “) und fast gleichzeitig mit einem regelrechten Paratyphus B-Stamm („Kiel γ “) aus dem Blute eines Kranken gezüchtet, ähnlich „Hassee“ aus dem Blute eines Kranken, bei dem kurz zuvor regelrechte Paratyphus B-Bakterien im Blute gefunden wurden. Es ist daher wahrscheinlich, daß die gaslosen Stämme Mutationsformen regelrechter Typhus- oder Paratyphus-Bakterien sind.

Literatur.

- Bainbridge, Proc. Roy. Soc. Med. Epidemiol. Sect. Febr. 1911.
 Beckers, J. K., Hygien. Rundsch. 1908. Bd. 18. p. 313.
 Bitter, Ludw., Dtsch. med. Wochenschr. 1910. p. 400. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 474.
 Boycott, Journ. of Hyg. Vol. 11. 1911. p. 443.
 Buchholz, W., Zeitschr. f. Hyg. 1907. p. 220.
 Ditthorn, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. p. 497.
 Fischer, Bernh., Klin. Jahrb. Bd. 15. 1905. p. 79–81.
 Kutscher u. Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. 1906. p. 301.
 Loewenthal u. Seligmann, Berlin. klin. Wochenschr. 1913. p. 250.
 Michaelis, Leonor, Dtsch. med. Wochenschr. 1911. p. 969.
 Müller, Reiner, u. Gräf, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 856.
 Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beih. p. 57. — München. med. Wochenschr. 1909. p. 885. — Dtsch. med. Wochenschr. 1910. p. 2387. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 97. — München. med. Wochenschr. 1911. p. 2247.
 Neuberg, C., u. Hildesheimer, A., Biochem. Zeitschr. Bd. 31. 1911. p. 170.
 Oette, Ernst, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 1.
 Oldekop, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 120.
 Penfold, W. J., The Journ. of Hyg. Vol. 11. 1911. p. 30; Ibid. Vol. 11. 1912. p. 488; Ibid. Vol. 12. 1912. p. 195. — Proc. Roy. Soc. Med. Febr. 1911.
 Saisawa, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. p. 61.
 Sobernheim, Hygien. Rundsch. Bd. 22. 1912. p. 1020.
 — u. Seligmann, Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 36. 1910. p. 350.
 Twort, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 40. p. 508.

Nachdruck verboten.

Berichtigung zu Bertarelli „Der Rindertuberkulosebacillus in den tuberkulösen Veränderungen und die Beziehung der Rindertuberkulose zur menschlichen Tuberkulose“.

Von Prof. H. Kossel, Heidelberg.

In Heft 1/2 des 70. Bandes dieser Zeitschrift beschäftigt sich Bertarelli mit der Frage nach den Beziehungen zwischen tierischer und menschlicher Tuberkulose und mit meinem Bericht für den VII. internationalen Tuberkulosekongreß in Rom über den gleichen Gegenstand. Da er völlig falsche Angaben über den Inhalt meines Berichtes macht, so sehe ich mich gezwungen, sie richtig zu stellen.

Zunächst schreibt er mir die Anschauung zu, daß wir über die Beständigkeit des Rinderbacillentypus noch wenig unterrichtet seien. Dagegen vertrete ich bekanntlich den Standpunkt, daß die Tuberkel-

bacillentypen stabil sind und daß die angeblich beobachteten Umwandlungen der Typen auf falscher Deutung der Versuchsergebnisse beruhen. In dem erwähnten Bericht habe ich eine ganze Reihe von Tatsachen angeführt, die für die Stabilität des bovinen Keimes im menschlichen Körper sprechen.

Bertarelli bezweifelt, daß es berechtigt ist, aus dem Nachweis von bovinen Bacillen beim Menschen ohne weiteres auf den bovinen Ursprung der Erkrankung zu schließen. Gerade wenn es zutrefte, daß der bovine Keim im Menschen sich nicht in den humanen Typus umwandle, könne ein von Rindertuberkulose infiziertes Individuum die bovine Infektion auch wieder auf andere Menschen übertragen. Man dürfe sich also nicht „beim Auffinden eines Rinderbacillus in einer tuberkulösen Schädigung ohne weiteres zu der Behauptung verleiten lassen, daß die Infektion auf das Rind zurückzuführen ist“.

Diesen Schluß habe ich nicht ohne weiteres gezogen, sondern ihn, wie folgt, begründet:

„Man könnte aber die Frage aufwerfen, ob ein solcher boviner Keim, der sich beim Menschen findet, auch wirklich in jedem Falle von einem tuberkulösen Tier her stammt, also „zoogen“ ist. Da Infektionen mit bovinen Tuberkelbacillen beim Menschen vorkommen, so könnten sie ja vielleicht auch von Mensch zu Mensch weiter verbreitet werden, die gefundenen Keime also „anthropogen“ sein.

Gegen diese Annahme spricht die Lokalisation der Tuberkelbacillen des Typus bovinus in den menschlichen Fällen. Wären diese anthropogen, so müßten sie sich bei jeder Lokalisation der Tuberkulose im menschlichen Körper in annähernd dem gleichen Prozentsatz finden. Sie lassen sich aber fast nur bei Lokalisationen feststellen, die auf die Verdauungswege als Eingangspforte und damit auf Nahrungsmittel als Träger der Ansteckungskeime hinweisen.

Tuberkulose der Halsdrüsen, primäre Tuberkulose des Darmes, der Mesenterialdrüsen, des Peritoneums stellen die größte Zahl derjenigen Fälle dar, in denen beim Menschen Tuberkelbacillen des Typus bovinus nachgewiesen worden sind. Die primäre Tuberkulose der Lungen dagegen, die wir uns durch eine Uebertragung der Keime mit der Luft entstanden denken, beruht mit verschwindenden Ausnahmen auf Infektion mit dem humanen Keim. Ferner finden sich Bacillen des bovinen Typus nur äußerst selten bei offener Tuberkulose des Menschen; die Ausscheidung der Keime ist aber Vorbedingung für die Entstehung anthropogener Infektionen. Bei den Tieren dagegen kommen sie sowohl bei geschlossenen wie bei offenen Formen der Tuberkulose vor. Gerade bei unseren milchliefernden Haustieren findet sich die Lokalisation der Tuberkulose im Euter, die mit der Ausscheidung oft ungeheurer Mengen von Tuberkelbacillen in der Milch einhergeht. Es kommt hinzu, daß nach Jancsó und Elfers Beobachtungen in einem Teil von Ungarn, wo die Pellsucht unter den Rindern fehlt, bei der trotzdem dort weit verbreiteten Tuberkulose des Menschen niemals Bacillen des Typus bovinus nachgewiesen werden konnten.

Wir sind also berechtigt, die Infektionen des Menschen mit Bacillen des Typus bovinus als zoogen anzusehen und sie auf den Genuß animalischer, infizierter Nahrungsmittel, in erster Linie der Milch, zu beziehen.“

Wird man schon nach den angeführten Beispielen vermuten müssen, daß Bertarelli meinen Bericht, gegen den er polemisiert, überhaupt nicht im Original gelesen hat, so wird dies zur Gewißheit, wenn er mich sagen läßt, daß „ungefähr 8 Proz. der Fälle von Lungentuberkulose auf Grund der experimentellen Untersuchungen als vom Rinderbacillus herrührend betrachtet werden müßten“. Ich habe mich ausdrücklich gegen einen solchen Schluß gewehrt, indem ich unter Berufung auf Robert Kochs Vortrag in Washington vor einer Uebertragung dieser für die sämtlichen untersuchten Fälle von Tuberkulose — nicht nur für Lungentuberkulose — geltenden Prozentzahl auf die Lungenschwindsucht warnte. Im Gegenteil sagte ich wörtlich, „also nur bei 5 Fällen (unter 800) von Lungentuberkulose = 0,6 Proz. haben sich

bovine Keime nachweisen lassen, während bei den übrigen Kranken (= 99,4 Proz.) ausschließlich anthropogene Bacillen vorlagen“.

Wenn Bertarelli meint, daß auch unter dieser Zahl noch Fälle sein müssen, die zwar die Merkmale der typischen Rindertuberkulose tragen, aber vom Menschen herrühren, mit anderen Worten, daß die Bedeutung der Tiere als Infektionsquelle noch geringer einzuschätzen sei als von mir, so ist dies eine Anschauung, für die er keinerlei Beweise erbringt. Das ist, was Bertarelli selbst eine „bodenschwache Kritik“ nennt.

Nachdruck verboten.

Weitere experimentelle Beiträge zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbacillen.

Von Tierarzt **Fritz Schoettle**, Mötzingen.

Die Veranlassung zur weiteren Bearbeitung dieser Frage gab mir der Tod einer Anzahl Mäuse, welche im hiesigen Institut mit Milzbrandmaterial geimpft worden waren. Sämtliche Tiere waren subkutan infiziert worden und starben in kurzer Zeit. Die nachfolgende Autopsie ergab keine Anhaltspunkte dafür, daß die Tiere an Milzbrandbakteriämie gestorben waren, da sich nur an der Impfstelle zahlreiche Milzbrandbacillen vorfanden, während im Blut und in den Organen mittels Kultur und Impfversuchen keine Mikroben nachzuweisen waren. Es lag deshalb nach diesen Ergebnissen die Frage nahe, ob der Tod der Tiere nicht durch Milzbrandtoxine erfolgt sei.

Die Frage, ob der Milzbrandbacillus Giftstoffe zu bilden vermag, hat seit Pasteur bis in die neueste Zeit die Forscher beschäftigt, obwohl durch die gründliche Arbeit Conradis ein gewisser Abschluß erreicht war. Dieser konnte bei eigens darauf gerichteten Untersuchungen die Existenz eines Milzbrandgiftes nicht nachweisen (5). Wir dürfen jedoch nicht kurzerhand annehmen, daß der Milzbrandbacillus kein spezifisches Gift produziert, im Hinblick auf die ungeheuer verschiedenen Bedingungen der Giftbildung bei Bakterien überhaupt, bei ihrem Lebensprozeß in den komplizierten Eiweißsubstanzen des lebenden Organismus, und den Stoffen, welche wir ihnen in unseren Kulturmedien bieten.

Kurz nach der Entdeckung des Milzbrandbacillus nahm man an, daß der Tod bei Milzbrand auf rein mechanischem Wege, durch Verstopfung des Kapillarsystems durch Bacillen hervorgerufen werde. Dieser Anschauung wird auch heute noch von manchen Pathologen beigegeben. Später wurde darauf hingewiesen, daß dies keine befriedigende Erklärung sei für die bei manchen Tierarten und auch beim Menschen auftretenden Allgemeinerscheinungen, wo hohes Fieber auch dann vorhanden ist, wenn der Milzbrandinfektionsprozeß ein rein lokaler ist und bleibt, z. B. beim Karbunkel, und bei den oben erwähnten Fällen, wo mit Ausnahme der Impfstelle im ganzen Körper keine Milzbrandbacillen nachzuweisen waren.

Nach solchen Vorkommnissen liegt es allerdings nahe anzunehmen, daß die spezifisch krankmachende und zum Tode führende Wirkung der Anthraxinfektion an besondere Giftstoffe gebunden ist. Es ist jedoch bis heute mit allen bis jetzt bekannten Methoden nicht wie bei manchen anderen Bakterien gelungen, einen diesbezüglichen Giftstoff nachzuweisen.

Andererseits ist auffallend, wie wenig giftig die Leibessubstanz der Milzbrandbacillen für Tiere ist, da man, wie zahlreiche Versuche in den Jahren 1889, 1891 usw. gezeigt haben, von abgetöteten Agarkulturen der Milzbrandbacillen größeren und kleineren Tieren große Mengen ohne erhebliche Schädigung einverleiben kann.

Durch die Entdeckung des Diphtherie- und Tetanusgiftes wurde die Kenntnis über das Wesen der Infektion ungemein erweitert. Seitdem weiß man, und kann es beweisen, daß es bei manchen spezifischen Infektionserregern auch diesen angehörende Giftstoffe gibt, welche bei dem Lebensprozesse der betreffenden Bakterien produziert werden, und die nach Einverleibung in den tierischen Körper dieselben Erscheinungen hervorrufen, wie nach einer Infektion mit dem Bakterium selbst.

Es war somit die Rolle der Bakteriengifte bei manchen Infektionskrankheiten klargelegt, insofern, als die Bakterien Giftproduzenten sind, und die deletären Wirkungen der Infektionskrankheiten auf Rechnung der spezifischen Giftstoffe der betreffenden Bakterien zu setzen sind. Hierbei sind allerdings Infektion und Intoxikation klinisch nicht voneinander zu trennen.

Bekanntermaßen ist es jedoch bisher noch nicht gelungen, für alle pathogenen Mikroorganismen das Vorhandensein eines spezifischen Giftes durch Untersuchungen an Reinkulturen auf künstlichen Nährböden einwandfrei nachzuweisen.

Historische Uebersicht.

Die Beobachtungen von Archangelski, Roloff, Osol, u. a., welche annahmen, daß die Milzbrandbacillen überhaupt nicht den primären Infektionsstoff darstellen, sondern daß dieselben erst aus gewissen Protokokken unter dem Einfluß eines unorganischen chemischen Giftes entstehen und wirksam werden sollen, dürfen wir wohl übergehen, um so mehr als die Angaben der genannten Autoren durch W. Koch in keinem Punkte bestätigt werden konnten. Ebenso wenig konnten die Untersuchungen von Tatarski, welcher aus den Organen von an Milzbrand gefallenen Tieren ein Anthraxgift nachzuweisen versuchte, der Kritik standhalten (5).

Hoffa extrahierte aus Fleischbrei, der sterilisiert, und mit Milzbrandbacillen geimpft wurde, einen sehr giftigen, alkaloidartigen Körper, der für Kaninchen, Meerschweinchen und auch Frösche in sehr kleinen Dosen tödlich war, und milzbrandähnlichen Krankheitsverlauf bewirken sollte. Auch aus dem Körper von Milzbrandtieren will Hoffa ein sehr wirksames Gift, das Anthrazin dargestellt haben. Schon damals betonte Baumgarten in seiner Kritik, daß durch diese Arbeit der Nachweis eines spezifischen Giftstoffes im Tierkörper, eines wirklichen Anthrazin, nicht erbracht sei (3).

Hankin (1889) gewann auf chemischem Wege aus Milzbrandkulturen eine Albumose, welche bei Mäusen und Kaninchen in kleinen Dosen immunisierend, in größeren giftig wirkte. Außerdem trat der Tod bei gleichzeitiger Injektion von Albumose und Milzbrand schneller ein, als nach gewöhnlicher Milzbrandinfektion. Bei späteren Versuchen fanden Hankin und Westbrook in Kulturen, die in Fleischextrakt (1:100), unter Fibrinzusatz, sowie in besonders hergestellten Peptonlösungen bei 20° gezüchtet wurden, neben einem tryptischen Ferment eine Albumose, die für Ratten und Frösche sehr giftig war, nicht aber für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen.

Bei Nachprüfung dieser Untersuchungen gelangte indessen Petermann zu Ergebnissen, die nicht gerade zugunsten der Hankinschen Angaben sprechen (3).

Räsanzew verdanken wir Untersuchungen über die Veränderung der Blutgase bei der Milzbrandbakteriämie. Nach ihm nimmt der Sauerstoff des Blutes um die Hälfte seines Volumens ab, während Kohlensäure und Stickstoff eine relative Zunahme erfahren (6).

Martin (1890) versuchte, im Tierkörper die Gifte des Milzbrandes aufzusuchen, und berichtet über giftige Proto- und Deuteroalbumosen, sowie Alkaloide, die er aus Milzbrandkulturen auf reinen Alkalialbuminatnährböden erhalten haben will. Nach ihm wird die Wirksamkeit der Albumosen durch Kochen zerstört, die der Alkaloide wenig beeinflußt. Letztere bleiben auch nach dem Erhitzen für Meerschweinchen tödlich. Die Alkaloide bewirken Oedem und Tod, die Albumosen hauptsächlich Fieber. Auch im Körper von Tieren, die an Milzbrand gestorben sind, will Martin die gleichen Giftstoffe gefunden haben.

Durch die Verarbeitung wässeriger Auszüge von Milzbrandorganen (Leber, Milz, Lungen, Nieren) nach der nachstehenden Methode der Toxalbumindarstellung gelangten Brieger und Fraenkel in den Besitz von giftigen Substanzen. Es wurden Leber, Milz, Lungen und Nieren fein zerhackt, mit Wasser zu einem Brei zerrieben, und die Flüssigkeit nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank durch Chamberland filtriert. Das Filtrat wurde dann im Vakuum bei 30° auf $\frac{1}{3}$ seines Volumens eingedampft, in die zehnfache Menge absolutesten Alkohols eingetragen, und einige Tropfen konzentrierter Essigsäure hinzugefügt. Der entstehende Niederschlag wurde hierauf nach 12-stündigem Aufenthalt im Eisschrank abfiltriert, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen, von neuem filtriert, abermals mit Alkohol gefällt, und dieses Verfahren so lange wiederholt, bis die wässrige Lösung ein klares Aussehen zeigte. Durch schließliche Anwendung der Dialyse erhielt man beim Trocknen im Vakuum bei 40° eine weißlichgraue, durch Alkohol fällbare, in Wasser lösliche Substanz, welche die Eiweißreaktionen gab. Uebrigens soll sich ihre Toxizität ähnlich verhalten haben wie die, welche von den Autoren für das Diphtheriegift festgestellt wurde (4).

Popoff (1890) suchte darzutun, ob in einer Kreatinkultur von Milzbrand toxische Produkte gebildet werden. Er hat zu diesem Zwecke seine Milzbrandkreatinkultur nach Zusatz eines Tropfens Salzsäure 3 Tage lang $\frac{1}{2}$ Stunde sterilisiert, hierauf filtriert und das Filtrat auf dem Wasserbad bis auf geringe Mengen eingengt. Von dem Rückstande injizierte er 1 ccm einem Kaninchen subkutan, doch traten keinerlei Vergiftungserscheinungen auf. Diese Versuche gestatteten jedoch wegen ihrer beschränkten Zahl keine Schlüsse.

Balp und Carbone (1891) gewannen aus den Organen eines an Milzbrand gestorbenen Menschen, wobei sie das ödematöse Gewebe des Halses und Rumpfes, sowie die Leber verwendeten, Eiweißstoffe, die für Mäuse und Meerschweinchen in geringen Mengen toxisch waren. Die Minimaldosis von 0,15 g verursachte den Tod einer Maus von 25 g (3).

Landi (1891) isolierte aus Blut und Organen von Milzbrandtieren Albumosen, welche für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse schwach toxisch wirkten. Er gewann indessen ganz ähnliche Eiweißkörper aus den Organen völlig gesunder Tiere.

Martinotti und Tedeschi wiesen in dem Gehirn von Milzbrandtieren toxische Substanzen nach (5).

Klemperer (1891) fand in gekochten Milzbrandkulturen ein Protein, welches bei Versuchstieren Fieber erzeugte.

Die Angaben der letzteren Autoren sind indes nicht so aufzufassen, als ob die wahrgenommenen Krankheitssymptome durch ein spezifisches Toxin ausgelöst worden wären. Es handelt sich hier vielmehr um Krankheitserscheinungen nach Einverleibung artfremden Eiweißes.

Wenn man einem Tier Eiweiß einer anderen Tierart, mögen dies nun abgetötete Bakterien, Blut- oder Körpereiwweiß sein, in größeren Dosen einverleibt, so reagiert sein Körper darauf. Diese Reaktion besteht meist in Störung des Allgemeinbefindens, Fieber, unterdrückter Futteraufnahme usw.

Es sind daher solche Erscheinungen, welche ja durch abgetötete Bakterien der verschiedensten Art auszulösen sind, nicht spezifisch für abgetötete Milzbrandbacillen.

Maltzew (1891) spritzte Kaninchen 0,2–7 ccm Bouillonkulturfiltrat unter die Haut, ohne irgendwelche Erscheinungen wahrzunehmen. Wenn er jedoch diese vorgeimpften Tiere nach 10–18 Tagen mit Milzbrand impfte, so gingen dieselben schneller zugrunde als die Kontrolltiere.

Diese Beobachtung Maltzews, wie die Hankinschen Versuche ließen die Hypothese zu, daß der Milzbrand in künstlichen Nährlösungen sogenannte Aggressine erzeuge, welche die Infektion begünstigen.

Die Versuche von Sanarelli (1893), wobei Kaninchen, denen Milzbrandkulturen in Kollodiumsäckchen unter die Haut gebracht wurden, ganz gesund blieben, obwohl die Bakterien erst nach 20–27 Tagen abstarben, führen sicherlich zu dem Schlusse, daß auch innerhalb des Tierkörpers lösliche, dialysierbare Giftstoffe nicht gebildet werden.

Heim und Geyger (1894) konnten bei der Züchtung in Hühereiern aus Milzbrandkulturen stark giftige Verbindungen erhalten.

Die letzte größere Arbeit über Milzbrandgift stammt von Marmier (1895). Er suchte mit verschiedenen Methoden die Frage der Toxinbildung endgültig zu lösen. Er züchtete den Milzbrand in Pepton-Glyzerinlösung bei 20 und 37°. Der ersterwähnte niedrige Temperaturgrad erwies sich, wie Hankin und Westbrook schon betonten, für die Giftbildung viel günstiger; die filtrierte Kulturflüssigkeit wurde mit Ammoniumsulfat gesättigt, und der entstandene Niederschlag mit kleinen Mengen von Glyzerin extrahiert. Die nun in Lösung gehenden Substanzen werden mit der vierfachen Menge absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether gewaschen, und

im Vakuum getrocknet. Diese Substanz ist in Wasser löslich, unlöslich in Chloroform. Erhitzen auf 110° schwächt die Substanz in ihrer toxischen Wirkung ab, Chlorkalk zerstört sie gänzlich. Was ihre Toxizität anlangt, so liefert die letale Dosis keine konstante Größe, für Kaninchen beträgt sie bis zu 2 ccm pro Kilo Körpergewicht, dieselbe Inkonsistenz besteht bei der Lebensdauer der Impftiere, sie wechselt zwischen 24 Stunden und 19 Tagen. Die unmittelbare Wirkung des Toxins äußert sich in Temperatursteigerung, Durchfall und allmählicher Kachexie. Die Sektion ergab stets allgemeine Abmagerung. Die gegen Milzbrand refraktären Tiere zeigten sich auch für das Toxin wenig empfänglich. Auch aus Kartoffelkulturen gewann Marmier durch einen eigentümlichen Extraktionsprozeß mit Alkohol seine giftigen Substanzen. Filtrate von Milzbrandkulturen, welche er in Rinder-, Pferde- und Kalbsblutserum angelegt hatte, waren ohne toxische Eigenschaften (3).

E. Klein (1894) untersuchte die noch wenig bekannten intracellulären Bakterien-gifte. 48-stündige Agarkulturen wurden in je 5 ccm Bouillon verteilt, die Bakterien und Sporen durch 5 Minuten langen Aufenthalt in kochendem Wasser abgetötet. Meer-schweinchen erhielten $\frac{2}{3}$ der Kultur intraperitoneal ohne jeden Nachteil einverleibt. Daraus schließt Klein, daß der Milzbrand kein intracelluläres Gift in sich aufspeichert.

Czaplewski (1892) glaubt, daß die Impfung mit Milzbrand direkt vom Tier aus unzulässig ist, da die dabei zugleich mitgeführten Körperbestandteile, und die im Körper viel hochgradiger als in der Kultur von den Bakterien produzierten Giftstoffe, ebenso wie die mitgeführten Proteine, sowohl den lokalen, als auch den allgemeinen Prozeß der Infektion bedeutend beeinflussen können, und daher die Beurteilung unnötig erschweren, weil sie das reine Bild der Infektion trüben (1).

Nach Lubarsch hat man jetzt schon verschiedene Beispiele dafür, daß durch Injektion toter Bakterienkulturen ein Tod der Tiere unter den Erscheinungen des mehr oder weniger ausgesprochenen Marasmus, durch eine mehr oder weniger chronische Intoxikation mit den injizierten Substanzen in kürzerer oder längerer Zeit erfolgen kann.

Bouchard hat nachgewiesen, daß gleichzeitige intravenöse Injektion sterilisierter Milzbrandkulturen die subkutane Infektion begünstigt, und mitunter sogar erst ermöglicht.

Wenn man mit den infektiösen Produkten eines an einer Infektion eingegangenen Tieres von Tier zu Tier, hauptsächlich intraperitoneal oder intravenös weiterimpft, so wird die eintretende Infektion immer bösartiger, der Verlauf immer akuter, was ja bereits für viele Infektionserreger gefunden wurde. Für die meisten dieser Fälle handelt es sich aber nach Lubarschs Ansicht wohl um keine echte Virulenzsteigerung, sondern nur um eine gesteigerte Intoxikation durch immer reichlicher gebildete, mitverimpfte Giftstoffe, welche von dem Infektionserreger im Organismus des erlegenen Tieres gebildet und mitverimpft werden.

Auf diese Verhältnisse hat zuerst Koch hingewiesen. Will man sich von der Täuschung, daß die gesteigerte Pathogenität des betreffenden Infektionserregers nicht etwa nur durch Intoxikation mittels mitgeführter anhaftender Giftstoffe bedingt sei, erheben, so muß man den Infektionserreger reinzüchten, durch mehrfache Übertragungen auf immer neue Nährböden von allen etwa aus dem Tierkörper mitgeführten Giftstoffen trennen, und erst dann Impfversuche damit anstellen.

Da Metschnikoff und Sawtschenko dieses Kochsche Postulat nicht erfüllt haben, so ist anzunehmen, daß es sich bei ihren Passagetauben nur um eine gesteigerte Pathogenität durch gesteigerte Intoxikation gehandelt hat, obwohl eine echte Virulenzsteigerung natürlich darum noch nicht ausgeschlossen zu sein braucht.

Hofherr berichtet über eine tödlich wirkende Dünndarmentzündung bei Hühnern, die per os mit Milzbrandmaterial geimpft worden waren, und stellt weiteren Untersuchungen anheim, festzustellen, ob der Tod dieser Tiere, obwohl keine Milzbrandbacillen im Blut oder den Organen nachzuweisen waren, nicht durch von denselben produzierten oder bei ihrem Zerfall freigewordenen Giftstoffen herbeigeführt worden sei.

Nach Sclavo (3) sollen bei Kaninchen unter Umständen Milzbrandlähmungen hervorgerufen werden können. Er fand Lähmungserscheinungen bei Tieren, welche mit Milzbrandserum intravenös geimpft worden waren, und hierauf eine subkutane Impfung mit Milzbrandkultur erhalten hatten. Die Sensibilitäts- und Motilitätsstörungen traten bei allen Kaninchen (9 unter 352) an den Hinterextremitäten, etwa 16–31 Tage nach der Impfung auf; diese Tiere gingen sodann längere oder kürzere Zeit nach dem Beginn der Lähmungen zugrunde, ohne daß sich, mit Ausnahme eines einzigen Falles, Milzbrandbacillen im Blut oder den Organen nachweisen ließen. Sclavo deutet diese Versuchsergebnisse im Ehrlichschen Sinne einer Toxonwirkung. Es ist auch schon beobachtet worden, daß bei Rindern, welche die Milzbrandbakteriämie überstanden haben, gelegentlich lähmungsartige Schwäche der Beine längere Zeit zurückbleibt (3).

Strueff glaubt sich auf Grund eigener Untersuchungen und der sonstigen Erfahrungen zu folgenden Schlüssen berechtigt:

„Der Tod an akutem Milzbrand ist eine Folge der bakteriellen Embolie der Lungen, zur Zeit, wo die übrigen Veränderungen in den Organen noch nicht so weit vorgedrungen sind, daß sie das Leben bedrohen könnten. Nach seiner Ansicht folgt daraus, daß, wenn auch Toxine beim Milzbrand zugegen sind, die im Laufe des akuten Milzbrandes gebildete Menge nicht so groß ist, um bemerkbar zu sein. Eher sind die Toxine in Fällen des verzögerten Milzbrandes zu suchen“ (7).

Kitt vertritt die Anschauung, daß die Wirkung der Anthraxbacillen bei der Milzbrandbakteriämie in der Bildung toxischer Stoffe liege, welche Blutzellen-auflösende Eigenschaften haben sollen.

Ein von John e angegebener einfacher Versuch illustriert dieses Verhältnis. Wenn man einen hängenden Bouillontropfen mit Milzbrandblut beschickt, und das Präparat bei 20–30° einige Tage stehen läßt, so bemerkt man, daß mit dem Weiterwachsen der Bacillen die roten Blutzellen nach 24–36 Stunden vollständig verschwinden. In Kontrollpräparaten ohne Milzbrandbacillen bleiben dagegen die Blutzellen 6–8 Tage unverändert (10).

Das Milzbrandalkaloid verursacht ganz ähnliche Symptome, wie die Proto- und Deuteroalbumose. Es wirkt jedoch schneller und ist giftiger als die Milzbrandalbumose. Die Tiere werden sofort nach der Injektion krank, und der Tod tritt allmählich unter zunehmendem Coma ein. Die Autopsie ergibt ausgedehntes Oedem der Impfstelle, Aufschwellung, und manchmal Thrombose der kleinen Gefäße. Hin und wieder sind Extravasate in der Bauchhöhle vorhanden, die Milz ist gewöhnlich geschwollen, brüchig, dunkel und blutreich, oder ist auch gar keine Schwellung derselben wahrzunehmen. Die tödliche Dosis für eine 22 g wiegende Maus ist 0,1 bis 0,15 g, der Tod erfolgt in 2–3 Stunden. Martin, der diesbezügliche Versuche angestellt hat, vermutet, daß die Albumose giftig ist, weil das Alkaloid in ihrem Molekül in statu nascendi vorhanden ist (7). Es ist wohl zweifellos, daß seine Albumose mit der Milzbrandalbumose identisch ist, mit welcher Immunität gegen Milzbrand erzeugt worden ist. Pfersdorff (9) setzte größere Mengen von Milzbrandbacillen der Autolyse aus, um das so gewonnene Material auf seine Gift- und Fermentwirkung zu prüfen. Am Schlusse seiner Arbeit kommt er zu folgenden Ergebnissen: „Durch die Autolyse lassen sich aus den Leibern der Milzbrandbacillen Stoffe gewinnen, welche schwer löslich, und zum Teil deshalb nicht in die umgebende Kulturflüssigkeit übergehen.“ Er konnte ein Labferment, ein Fettsäure spaltendes Ferment, und ein Ferment, welches den Gelatineleim sowohl in alkalischer als in saurer Lösung peptonisiert, konstatieren (9). Stein suchte durch Fäulnisenzyme den Zerfall der Kadavermilzbrandbacillen herbeizuführen, um eventuelle Endotoxine freizumachen, fand jedoch, daß die Fäulnisenzyme nicht dazu geeignet sind, da die großen Mengen, welche Milzbrandbacillen aufzulösen imstande wären, selbst sehr toxisch wirken (8).

In den letzten Jahren scheint das Interesse an der Bearbeitung der Toxinfrage erlahmt zu sein, wahrscheinlich weil keiner der vorgenannten Autoren zu irgendwelchem befriedigenden Resultat gelangt ist. Es soll damit die Existenz eines spezifischen Milzbrandgiftes nicht geleugnet werden.

Daß Meerschweinchen, Kaninchen usw. nach subkutaner Infektion mit Milzbrand bis kurz vor dem Tode ohne jegliche Allgemeinerscheinungen bleiben, obwohl das Lokalfiltrat von ganz enormen Bakterienmengen durchsetzt ist, spricht ebenfalls nicht zugunsten der Gifthypothese. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die mit Hilfe besonderer Methoden aus Kulturen und Organen dargestellten Eiweiß- oder eiweißartigen Substanzen toxische Produkte repräsentieren, welche mit dem eigentlichen spezifischen Milzbrandgifte nichts zu tun haben. Diese Annahme scheint um so mehr berechtigt, als es sich bei allen bisher bekannten positiven Befunden stets nur um vereinzelt dastehende Mitteilungen handelt, denen eine anderweitige oder allgemeinere Bestätigung nicht gefolgt ist.

Pasteur, Joubert, Nencki und andere haben ja schon nachgewiesen, daß keimfreie Filtrate von Milzbrandblut und Milzbrandkulturen ohne jede Giftwirkung von verschiedenen Tieren in großen Mengen vertragen werden; die Angabe Arloings (1890), der mit filtrierten Milzbrandkulturen bei Lämmern, Kaninchen und sogar Hunden toxische und tödliche Wirkungen erzielt haben will, ist im Hinblick auf die negativen Ergebnisse zahlreicher anderer Forscher sicherlich unzutreffend. Auch die Mitteilung W. Kochs, daß die Injektion großer Mengen von Kulturfiltraten (Hühnerbouillon) bei Schafen und Kaninchen starke Dyspnoë und Temperatursteigerung bis zu 2° hervorzurufen vermag, kann ebensowenig als beweisend angesehen werden.

Allgemeines über Toxine und Endotoxine.

Die Bakterientoxine sind nicht das Produkt der durch die bakterielle Invasion veränderten Kulturmedien, sondern, wie Buchner hervorhebt,

echte Produkte des Bakterienzellprotoplasmas. Sie sind Sekretionsprodukte des Bakterienleibes, welche derselbe ebenso liefert wie das Pankreas sein Trypsin, und die Kleberzelle des Weizenendosperms die Diastase produziert. Diese Toxine, welche bei den einen in die Kulturmedien ausgeschieden werden, haften bei gewissen anderen Mikroben recht fest an dem Zelleib, z. B. bei den Cholera-bacillen. Die pathogenen Mikroben, welche Toxinbildner sind, bilden letzteres auf den für sie günstigsten Nährböden in verhältnismäßig kurzer Zeit. So erhielt Spronck schon nach 48 Stunden ein sehr wirksames Diphtherietoxin auf Agarnährböden. Mit dem Alter der Kulturen nimmt die Toxizität zu.

Roux und Yersin fanden, daß eine Diphtheriekultur, filtriert nach 7 Tagen, ein Kaninchen nach 6 Tagen tötete, wogegen sie im Alter von 42 Tagen bei gleicher Dosis viel früher letal wirkte. Nach einer gewissen Zeit tritt das Toxinmaximum ein. Die Giftigkeit nimmt dann durch Zerfall des Toxins ab, so daß recht alte Kulturen wenig giftig sind. Nach ziemlich langer Zeit bleibt dann der Toxinwert konstant. Der Nährboden spielt für die Entstehung von Giften eine große Rolle. Im allgemeinen werden Bouillonkulturen unter Zusatz von Pepton, Kulturen auf Fleischextrakt, oder auf Hefeextrakten verwandt. Die lebhaftere Vermehrung einer Kultur ist jedoch nicht gleichbedeutend mit zunehmender Toxizität derselben. So gibt es bei den Diphtheriebacillen sehr energisch wachsende Stämme, welche völlig atoxisch und avirulent sind. Andererseits aber gibt es Mittel, die zwar das Wachstum und eventuell auch die Virulenz steigern, die Ausbeute an Toxin jedoch herabsetzen. Dies geschieht dadurch, daß sie das bereits gebildete Toxin wieder zerstören. Wenn also derartige Mittel zugleich mit der Wachstumsenergie der Bakterien auch ihre Toxinproduktion steigern, so wird doch durch ihre zu energische Anwendung mehr Toxin zerstört, als neugebildet wird, und es resultiert eine Verminderung der Toxinmenge. Bei derartigen Hilfsmitteln, wie es z. B. die Luftzufuhr bei Diphtheriekulturen ist, kann man eine Kurve der Toxinmenge konstruieren, deren Abszisse die steigende Anwendung des Mittels, deren Ordinate die schließlich resultierende Toxinmenge darstellt. Ähnlich wie Luftzufuhr wirken auch andere Faktoren. Namentlich Erhöhung der Temperatur kann einerseits die Toxinproduktion, andererseits aber auch den Toxinzerfall in ganz ähnlicher Weise beeinflussen. Die echten Toxine werden von ihren Mutterzellen mittels bakteriendichter Filter getrennt. Hauptsächlich werden dazu benutzt Porzellanfilter, Chamberland-Kerzen, Infusorien-erde oder Kalk. Bei Filtration größerer Mengen geht das Toxin restlos in das Filtrat über. Die restierenden Zellen haben nur so viel Giftwert, als der Menge des ihnen mechanisch anhaftenden Toxins entspricht, von dem sie durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung befreit werden können. In ihren Leibern enthalten sie dagegen kein echtes Toxin mehr, welches ihnen etwa durch Zerstörung ihrer Körperlichkeit (Aufquellen in Alkalien) entzogen werden könnte, wie dies z. B. Kossel bei Diphtheriebacillen zeigen konnte. Die toten Bakterienleiber können noch Gifte ganz anderer Art, Bakterienproteine, enthalten, welche mit der spezifischen Giftwirkung nichts zu tun haben. Aus alledem folgt, daß die typischen Toxine freie Sekrete sind, Stoffe die physiologisch von der Bakterienzelle in die umgebenden Medien hinein abgeschieden werden.

Besonders charakteristisch für die Toxine ist ihre ungemeine Empfindlichkeit, hauptsächlich gegen das Erwärmen. In ihrer natürlichen Lösung gehen sie bei Temperaturen von über 50° bald zugrunde. Bei 80° wird

ihre Wirksamkeit sofort aufgehoben, doch werden sie auch schon bei 45° langsam zerstört. Der Unterschied zwischen den einzelnen Toxinen ist gering. Trockene Hitze ertragen alle gut. Feste Präparate können ohne Schaden bis über 100° erhitzt werden, 150° dagegen scheint auch sie zu vernichten. Tiefe Temperaturen lähmen zwar ihre Wirksamkeit, schädigen sie selbst jedoch nicht. Das bloße Stehenlassen in Lösung unter allen Kautelen im Dunkeln führt zu langsamer Abschwächung der Gifte, die bei der Diphtherie und einigen anderen Giften in Toxoide zerfallen. Bei wieder anderen Giften ist die Existenz von Toxoiden noch nicht nachgewiesen.

Gegen chemische Agentien sind die Toxine ebenfalls sehr empfindlich. Sauerstoff, in der Verdünnung, wie er in der Luft enthalten ist, wirkt schon eminent schädlich. An der Luft, bei gleichzeitiger Belichtung verlieren die Toxine schnell ihre Giftigkeit, besonders das Tetanospasmin, das schon beim Filtrieren sehr geschwächt wird. Starke Basen und Säuren wirken vernichtend, schwache Basen schädlich, sehr schwache Säuren, besonders die organischen, wahrscheinlich fördernd.

Was die Wirkungsart der Toxine anlangt, so wirken dieselben vom Verdauungskanal aus nicht. Die gebräuchlichste Applikationsmethode ist die subkutane Injektion, gerade wie bei der Vergiftung mit lebenden Bakterien. Noch wirksamer sind intravenöse Injektionen, ferner intraperitoneale und subdurale Einverleibung, wie dieselbe bei Tetanus- und Gonokokkengiften angewandt wurde, oder die bisweilen angewandte Einspritzung in die Nerven nach Homén.

Bei der Wirksamkeit der Toxine sind namentlich zwei Punkte von grundlegender Wichtigkeit, die Spezifität und die Inkubationszeit. Während die Produktion und Wirkungsart der echten Toxine, wie bei Diphtherie und Tetanus genauer bekannt sind, liegen die Dinge bei einer großen Reihe von Krankheitserregern, als deren Hauptvertreter wir die Bakterien der Cholera, des Typhus und den *Bacillus pyocyaneus* zu bezeichnen haben, wesentlich anders und komplizierter.

Hier geht in die Lösung anfangs weniger Gift über, wohingegen die Bacillenleiber sehr stark giftig sind. Bei mehrere Wochen alten Bouillonkulturen zeigt sich eine beträchtliche Zunahme der Giftigkeit an den keimfreien Filtraten. Hier genügen schon kleinere Dosen, um die Versuchstiere zu töten. Doch erreicht auch unter diesen Umständen die Giftigkeit dieser Filtrate niemals ähnliche Werte, wie sie bei Diphtherie- und Tetanusgift vorkommen, wo schon Bruchteile von Milligrammen tödlich wirken können.

Die Cholerabacillen haben den größten Teil ihres Giftes in ihrer Leibessubstanz aufgespeichert. Diese Gifte werden infolgedessen erst dann frei, wenn die Bakterien zerstört, resp. aufgelöst werden, wie es im Tierkörper durch die Säfte geschieht, und bei älteren Kulturen spontan vorkommt, indem hier eine Menge von Bacillenleibern durch die alkalischen und sonstigen Produkte der alten Kulturen aufgelöst werden. Daher kommt es, daß in alten Kulturen das Filtrat viel toxischer wird, infolge dieses Auslaugungsprozesses, als bei jungen Kulturen.

Diese oben beschriebenen Gifte, welche also fest am Zelleib haften, nennen wir intracelluläre Gifte, oder Endotoxine, im Gegensatz zu den schon früher beschriebenen extracellulären oder sezernierten Toxinen. Wenn man diejenigen Bakterien, welche lösliche Gifte produzieren, von diesen möglichst befreit, so bleiben noch die dem Zelleib angehörenden Stoffe zurück. Diese Stoffe, die sogenannten Bakterienproteine, haben

nun noch eine physiologische Wirksamkeit, sie rufen an der Applikationsstelle Entzündungen, aseptische Eiterungen und Nekrosen hervor, außerdem Allgemeinerscheinungen, wie Fieber, Mattigkeit, Kopfschmerzen und anderes mehr.

Wenn wir daher Versuchstieren abgetötete Milzbrandbacillen durch Impfung einverleiben, so sind die eben erwähnten Krankheitserscheinungen nichts Spezifisches für den Milzbrandbacillus, sondern beruhen ganz allgemein auf den Erscheinungen bei Einverleibung artfremden Eiweißes.

Eigene Untersuchungen.

Bei meinen Versuchen verwandte ich vier verschiedene Methoden, um intra- oder extracelluläre Gifte des Milzbrandbacillus nachzuweisen. Als Versuchstiere kamen Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben in Betracht.

1) Die erste Methode war die schon lange Zeit angewandte Filtration von Milzbrandkulturen durch bakteriendichte Filter. Von der Tatsache ausgehend, daß durch den Prozeß der Autolyse die dem Bakterienzelleib fest anhaftenden intracellulären Gifte oder Endotoxine frei werden, verwandte ich zu meinen Filtrationsversuchen nur alte Kulturen. Das erhaltene Filtrat wurde hierauf den Versuchstieren intraperitoneal in ziemlich großen Dosen einverleibt. Außerdem wurden von jedem Filtrat zur Feststellung der Bakterienfreiheit Agarplatten angelegt.

Ferner wurde mit chemischen Mitteln versucht, aus jungen Kulturen Toxine freizumachen. Als erstens kam die Essigsäure in 1-proz. Lösung in Betracht. Es zeigte sich jedoch bei den ersten Injektionen, daß die Versuchstiere diese Säure nicht ertragen, sowohl bei Zusatz zu den Kulturen als auch allein in 1-proz. Lösung. Wenn man Mäusen 1 ccm 1-proz. Essigsäurelösung intraperitoneal einverleibt, so starben dieselben innerhalb kurzer Zeit an akuter Essigvergiftung. Das Sektionsbild war bei allen dasselbe, in Blutaussstrichen waren abnorm viele Leukocyten vorhanden (Leukämie). Auch ein Meerschweinchen, welches 4 ccm 1-proz. Essigsäure intraperitoneal injiziert erhalten hatte, starb nach einem Tag. Aus diesem Grunde wurde dann die Essigsäure verlassen, und an ihrer Stelle das Antiformin gewählt. Dieses Auflösungsmittel wurde in 1-proz. Lösung von den Versuchstieren ohne Schädigung intraperitoneal ertragen, und wurde deshalb in dieser Konzentration den Milzbrandkulturen zugesetzt.

2) In der zweiten Versuchsreihe wurde von dem Gedanken ausgegangen, im Blute von Milzbrandtieren Toxine aufzufinden. Es wurden zu diesem Zwecke hintereinander 3 Kaninchen mit Reinkulturen von Milzbrand subkutan geimpft. Die Blutentnahme erfolgte kurz vor dem Tod der Tiere, worauf dann das Blut weiterverarbeitet wurde.

3) In der dritten Versuchsreihe wurden von der Leber und Milz der obigen Kaninchen Organauszüge gemacht, welche ebenfalls durch bakteriendichte Filter filtriert, und das keimfreie Filtrat den Versuchstieren intraperitoneal einverleibt wurde.

4) In dieser Versuchsreihe wurden alte Milzbrandkulturen, welche auf festen Nährböden gezüchtet worden waren, im Achatmörser mit Glasstaub, unter Hinzufügung von physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Dieses Gemenge wurde alsdann ebenfalls durch bakteriendichte Filter filtriert, und das Filtrat in gleicher Weise wie bei der dritten Versuchsreihe an die Versuchstiere verimpft.

Was die chemischen und physikalischen Methoden anlangt, mit Hilfe derer aus Bakterienkulturen Gifte zu gewinnen sind, mag es sich nun

4*

um flüssige Nährböden, oder um feste Agar- oder Gelatinekulturen handeln, so kann man feststellen, daß die sehr komplizierten Methoden nicht mehr leisten, als die einfachen Extraktionsmethoden. Es ist vielmehr anzunehmen, daß es nicht die mechanischen Verhältnisse innerhalb des Zelleibes, sind welche ein Freiwerden der darin enthaltenen Endotoxine verhindern, sondern daß die physiologischen Verhältnisse unserer künstlichen Nährböden derartig sind, daß sie eine sinnfällige Giftproduktion, wie dieselbe im tierischen Organismus ermöglicht ist, entweder gar nicht oder nur in geringem Umfange gestatten.

Die mechanische Zerreibung der Bakterien mit Sand haben zuerst E. und H. Buchner 1893 zum Patente angemeldet. Dieses Prinzip wurde dann zuerst von Koch zur Zertrümmerung von Tuberkelbacillen angewandt.

Levy und Pfersdorff stellten die sogenannten Autolyseversuche an, indem sie die von festen Nährböden abgekratzten Bakterien in destilliertem Wasser unter Toluol bei 37° C extrahierten, und auf diese Weise aus asporogenem Milzbrand Gifte gewannen. Es hat sich jedoch hier nicht um eine wirkliche Autolyse gehandelt, da dieselbe eher in salzhaltigen Medien, und nicht bei Anwesenheit von destilliertem Wasser sich vollzieht.

Marmier gibt an, daß aus den Milzbrandbacillen durch Behandeln mit 20-proz. Alkohol ein Extrakt gewonnen werden könne, in welchem ein Milzbrandtoxin enthalten sei, und mit welchem man in steigenden Dosen immunisieren könne.

Boidin versuchte aus Milzbrandbacillen, wie Auclair aus Tuberkelbacillen durch Aether und Chloroform giftige Fettstoffe zu gewinnen. Diese sollen, subkutan injiziert, dieselbe lokale Reaktion hervorrufen, wie tote Milzbrandbacillen.

I. Versuchsreihe.

Die zu den Filtrationsversuchen verwendeten Milzbrandkulturen waren in Bouillon bei 37° C gezüchtet worden.

11 Tage alte Bouillonkulturen wurden durch die Chamberland-Kerze filtriert. Zum Nachweis der Bakterienfreiheit des Filtrats wurde aus diesem ein Bouillonröhrchen beschickt, welches nach einiger Zeit keinerlei Wachstum zeigte.

Mit diesem Filtrat wurden sodann 3 Mäuse, 2 Meerschweinchen und eine Taube geimpft. Die Mäuse erhielten 0,4, 0,6 und 1,0 ccm des Filtrats intraperitoneal einverleibt.

Die beiden Meerschweinchen erhielten 2,0 und 3,0 ccm intraperitoneal, und die Taube 3 ccm in die rechte Flügelvene. Eine Maus, welche 0,6 ccm erhalten hatte, zeigte ca. 1/2 Stunde post inject. typische Lähmungserscheinungen in der Nachhand. Das Sensorium war nicht gestört, die Vorwärtsbewegungen wurden nur mit den Vordergliedmaßen ausgeführt. Die Hintergliedmaßen waren in Streckstellung und wurden auf der Dorsalfläche des Metatarsus III geschleift. Diese Lähmungserscheinungen verschwanden nach 2 Tagen vollständig. 3 Tage nach der Injektion gingen die 3 Mäuse beinahe zu gleicher Zeit ein. Die Autopsie derselben bot nichts Wesentliches außer einer leichten Milz- und Nierenschwellung. In Ausstrichen aus dem Herzblut und der Milz waren keine Bakterien vorhanden. Auf Agarplatten, welche mit Herzblut der Kadaver angelegt worden waren, erfolgte ebenfalls kein Wachstum, so daß die Todesursache der Tiere nicht zu eruieren war. Die anderen mitge-

impften Tiere zeigten bis 4 Wochen nachher noch keinerlei Krankheitserscheinungen.

Dasselbe Impfmateriel wurde sodann im Brutschrank bei 37° C noch eingedickt, und damit 2 weitere Mäuse geimpft, welche je 1 ccm des Filtrats intraperitoneal erhielten. Eine dieser Mäuse starb nach 5 Tagen ebenfalls ohne nachweisbare Todesursache; Ausstriche aus dem Herzblut und damit angelegte Agarkulturen ließen keinerlei Bacillen erkennen. Die andere Maus zeigt bis ca. 3 Wochen post inject. noch keine Krankheitserscheinungen.

Weiterhin wurden 4 Wochen alte Milzbrandbouillonkulturen in einem Erlenmeyer bei 60° C 10 Stunden lang eingedickt, damit dieselben durch H₂O-Verlust möglichst konzentriert werden sollten. Diese Kulturen wurden sodann durch Chamberland filtriert, und das Filtrat von 3 Mäusen zu je 1,5 ccm mittels Pravazscher Spritze intraperitoneal einverleibt. Zum Nachweis der Keimfreiheit wurden von dem Filtrat Agarplatten angelegt, welche kein Wachstum zeigten. Diese Maßnahme wurde auch bei den späteren Filtraten stets getroffen. Die 3 Mäuse gingen nach 2—3 Tagen ein. Die Autopsie und Ausstrichpräparate aus dem Herzblut gaben keinen Aufschluß über die Todesursache bei den Tieren. Jedenfalls zeigten dieselben einige Zeit nach der Injektion des Filtrats keine Erscheinungen von Intoxikation.

Nun wurde versucht, mit 3-proz. Essigsäure die Bacillenleiber aufzulösen. Zu diesem Zwecke wurden 8 Tage alte Milzbrandbouillonkulturen bis zur Hälfte des Reagensglases mit 3-proz. Essigsäure aufgefüllt und noch 5 Tage lange bei 37° C im Brutschrank gehalten, hierauf durch Chamberland filtriert. Von dem so erhaltenen Filtrat wurden einem Meerschweinchen 6 ccm intraperitoneal injiziert. Bis nach 5 Wochen post inject. traten keine Krankheitserscheinungen bei demselben auf. 2 Tage später erhielten 2 Mäuse 1,0 und 1,5 ccm desselben Filtrats ebenfalls intraperitoneal.

Zu gleicher Zeit wurden zur Kontrolle 2 weitere Mäuse nur mit 3-proz. Essigsäure geimpft, und zwar erhielten dieselben auch 1,0 und 1,5 ccm intraperitoneal. Ein Meerschweinchen bekam ebenfalls 3-proz. Essigsäure zu 4 ccm intraperitoneal.

Die beiden Mäuse, welche Bouillonkultur-Essigsäure-Filtrat erhalten hatten, starben ca. 3 Tage nach der Injektion. Die Todesursache konnte weder durch die kurz nach dem Tod folgende Autopsie, noch durch Ausstrichpräparate ergründet werden.

Die beiden anderen mit Essigsäure geimpften Mäuse starben 3 Tage, das Meerschweinchen 4 Tage nach der Injektion. Die Sektion dieser Tiere ergab auffallende Blässe des Darmes und der Körperparenchyme, das Blut zahlreiche Leukocyten, so daß als Krankheits- resp. Todesursache akute Essigsäurevergiftung angenommen wurde.

Diese vorgenannten Versuche zeigen, daß einerseits die 3-proz. Essigsäure von den Versuchstieren nicht ohne Schaden ertragen wird, und daß andererseits die weißen Mäuse keine für meine Versuche geeigneten Versuchstiere sind. Es ist vielleicht möglich, daß größere Tiere die 3-proz. Essigsäure ohne Nachteil ertragen, wie wir an dem Meerschweinchen sehen können, welches 6 ccm Bouillonkultur-Essigsäure-Filtrat injiziert bekam, und keine Krankheitserscheinungen zeigte. Ein anderes Meerschweinchen, welches 4 ccm reine 3-proz. Essigsäure erhalten hatte, ist eingegangen. Wegen dieses unsicheren Verhaltens wurde die Essigsäure verlassen. Was die weißen Mäuse als Versuchstiere an-

langt, so bin ich der Ansicht, daß dieselben eine zu schwache Konstitution besitzen, und aus diesem Grunde Geringfügigkeiten, hauptsächlich auch Witterungseinflüssen (Kälte, Nässe) etc. manchmal sehr rasch erliegen. Ich habe deshalb mit Ausnahme von Versuchsreihe 4, wo noch 2 Mäuse zur Verwendung kamen, zu meinen weiteren Versuchen ausschließlich die resistenteren Meerschweinchen benützt. Wie schon früher erwähnt, wurde nun an Stelle der 3-proz. Essigsäure 1-proz. Antiforminlösung benützt. 5 Tage alte Agarkulturen wurden bis zur Hälfte des Reagensglases mit 1-proz. Antiforminlösung aufgefüllt, und 3 Tage lang stehen gelassen. Hierauf wurden die noch anhaftenden Bacillen mittels steriler Platinöse von der schiefen Agaroberfläche abgelöst, und das Ganze in einen kleinen Erlenmeyer gebracht. Das Gemenge wurde hierauf bei 60° C 10 Stunden lang eingedickt, durch Chamberland filtriert, und das Filtrat 2 Meerschweinchen zu 5,0 und 7,0 ccm intraperitoneal injiziert. Dieselben zeigen bis zu 5 Wochen post inject. keinerlei Krankheitserscheinungen.

Die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe sind in nachstehender Tabelle aufgezeichnet.

I. Versuchsreihe.

Versuchstier	Kubikzentimeter	Art der Einverleibung	Art des Filtrats	Erscheinungen
Maus	0,4	intraperit.	11 Tage alte Bouillonkulturen, durch Chamberland infiltriert	Tot 3 Tage post inject. ohne nachweisbare Todesursache 4 Wochen post inject., noch keinerlei Krankheitserscheinungen
Maus	0,6	intraperit.		
Maus	1,0	intraperit.		
Meerschweinchen	2,0	intraperit.		
Meerschweinchen	3,0	intraperit.		
Taube	3,0	intravenös		
Maus	1,0	intraperit.	Dasselbe Filtrat, im Brutschrank eingedichtet	Tot 5 Tage post inject., Ursache unbekannt Zeigte keine Krankheitserscheinungen
Maus	1,0	intraperit.		
Maus	1,5	intraperit.	Filtrat 4 Wochen alter Bouillonkulturen, die 10 Stunden bei 60° C eingedichtet waren	Tot 2—3 Tage post inject., ohne nachweisbare Ursache
Maus	1,5	intraperit.		
Maus	1,5	intraperit.		
Meerschweinchen	6,0	intraperit.	Filtrat 8 Tage alter Bouillonkulturen, die mit 3-proz. Essigsäure 5 Tage im Brutschrank standen	keinerlei Erscheinungen Tot 3 Tage post inject., ohne nachweisbare Ursache
Maus	1,0	intraperit.		
Maus	1,5	intraperit.		
Maus	1,0	intraperit.	3-proz. Essigsäure	Tot an akuter Essigsäurevergiftung
Maus	1,5	intraperit.		
Meerschweinchen	4,0	intraperit.		Tot 4 Tage post inject. ohne nachweisbare Ursache
Meerschweinchen	5,0	intraperit.	Filtrat 5 Tage alter Agarkult. mit 1-proz. Antiforminlösung	5 Wochen post inject. noch keine Erscheinungen
Meerschweinchen	7,0	intraperit.		

II. Versuchsreihe.

Schon früher wurde von verschiedenen Seiten die Ansicht ausgesprochen, daß wenn der Milzbrandbacillus überhaupt Toxine bilde, dieselben am ehesten im Blute milzbrandkranker Tiere aufzufinden seien. Ich machte daher diesbezügliche Versuche, zu welchen, wie schon früher erwähnt, 3 Kaninchen gewählt wurden, die mit Reinkultur von Milzbrand

infiziert worden waren. Die Inkubationszeit betrug bei diesen Kaninchen 48—50 Stunden. Bei der Blutentnahme ist zu beachten, daß dieselbe erst dann Aussicht auf ein positives Ergebnis hat, wenn die Milzbrandbacillen im Blutkreislauf auftreten, also kurz vor dem Tode. Der komatöse Zustand trat 50—52 Stunden post infect. ein. Ausstrichpräparate aus dem Blute der Ohrvene zeigten alsdann massenhaft Bacillen im Gesichtsfeld. Die Einstichstelle an der Ohrvene wurde jedesmal mit Jodoformkollodium verschlossen, um die Gefahr der Verunreinigung mit Milzbrandblut auszuschließen. Daran anschließend wurde das Kaninchen auf den Operationstisch gebracht und ganz kurz chloroformiert. Nachdem sodann beide Carotiden freigelegt waren, wurde die eine unterbunden, und die andere auf eine Länge von 3—4 cm von der Unterlage lospräpariert. Mit einer Arterienklemme gefaßt, wurde nun diese Carotis kopfwärts von der Klemme durchschnitten, und unter Loslassen der letzteren in ein steriles Reagenzglas gehalten, wohinein sich dann das Tier verblutete. Im Verhältnis zu gesunden Tieren ist die Blutausschüttung gering, da der komatöse Zustand der schwerkranken Tiere ein kräftiges Ausbluten verhindert. So erhielt ich bei einem völlig gesunden Kaninchen auf die angegebene Weise gerade die doppelte Menge Blutes im Gegensatz zu den kranken Tieren.

Nachdem die Kaninchen ausgeblutet waren, wurde sofort die Obduktion vorgenommen, um die Leber und die Milz zur weiteren Verarbeitung herauszunehmen. Die Oedemflüssigkeit an der Impfstelle war nur bei einem der drei Tiere so bedeutend, daß sie mittels Pravazscher Spritze aufgesaugt werden konnte.

Das auf oben beschriebene Weise erhaltene Milzbrandblut ließ ich in der Kälte einige Zeit stehen, bis sich das Serum abgeschieden hatte. Dieses wurde dann durch Chamberland filtriert, und das keimfreie Filtrat in einem Fall zu 5,0 ccm, in einem anderen zu 6,0 ccm einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Einmal wurde auch das Blutkoagulum am Boden des Reagenzglases verarbeitet. Es wurde im Mörser mit feinstem Glassand unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde lang verrieben, das Gemenge filtriert, und das erhaltene Filtrat mittels Chamberland bakterienfrei gemacht. Von diesem letzterhaltenen Filtrat erhielten 2 Meerschweinchen 5,5 und 8 ccm intraperitoneal.

Die in einem Fall gewonnene Oedemflüssigkeit wurde ebenfalls durch Chamberland filtriert, und 10 ccm des Filtrates einem Meerschweinchen injiziert. Sämtliche in dieser Versuchsreihe geimpften Tiere blieben fortwährend bis ca. 5 Wochen nach der Impfung ohne jede Krankheitserscheinungen, was aus nachstehender Tabelle ersichtlich ist.

II. Versuchsreihe.

Versuchstier	ccm	Art der Einverleibung	Art des Filtrates	Erscheinungen
Meerschweinchen	5,0	intraperitoneal	Serumfiltrat vom Milzbrandkaninchen	Sämtliche Tiere zeigen lange, bis 5 Wochen post infect., keine Krankheitserscheinungen
"	6,0	"	Blutkoag.-Filtrat vom Milzbrandkaninchen	
"	5,5	"	Filtrat der Oedemflüssigkeit v. Milzbrandkaninchen	
"	8,0	"		
"	10,0	"		

III. Versuchsreihe (Organauszüge).

Wie schon angedeutet, wurden zu diesen Versuchen die Leber und die Milz der zu Versuchsreihe II benutzten Milzbrandkaninchen verarbeitet. Diese beiden Organe eignen sich hierzu am besten deshalb, weil sie im tierischen Körper die größten Filter sind, in welchen etwaige Giftstoffe aufgespeichert werden können.

Die mikroskopische Untersuchung ergab jedesmal massenhafte Anhäufung von Milzbrandbacillen in den betreffenden Organen.

Die Leber und Milz wurden nun fein zerschnitten, und zum Zwecke weiterer Zerkleinerung unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung mit Glassand verrieben, hierauf filtriert, und das erhaltene Filtrat mittels Chamberland keimfrei gemacht. Das letzterhaltene Filtrat bekamen Meerschweinchen in Dosen, wie sie nachstehende Tabelle zeigt, ohne irgendwie krank zu werden.

III. Versuchsreihe.

Versuchstier	ccm	Art der Einverleibung	Art des Filtrates	Erscheinungen
Meerschweinchen	10,0	intraperitoneal	Leberextraktfiltrat	Sämtliche Tiere sind noch lange, ca. 5 Wochen post inject., ohne Krankheitserscheinungen
"	5,0	"	"	
"	8,0	"	"	
"	2,0	"	Milzextraktfiltrat	
"	5,0	"	"	

IV. Versuchsreihe (Bacillenverreibungsversuche).

3 Wochen alte Traubenzuckeragarkulturen des Milzbrandbacillus werden mittels steriler Platinöse in den Achatmörser abgetragen und mit feinstem Glassand unter tropfenweisem Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde lang verrieben. Nachdem die Verreibungsflüssigkeit einige Zeit gestanden hat, damit sich der Glassand absetzt, wird dieselbe durch Chamberland filtriert. Das so erhaltene Filtrat bekommen 3 Meerschweinchen zu 2, 3 und 4 ccm, und 2 Mäuse zu 1 und 2 ccm intraperitoneal einverleibt. Auf dieselbe Weise erhielt ich von Agarplatten ein Filtrat, welches ich 2 Meerschweinchen zu 6 und 9 ccm injizierte.

Die beiden geimpften Mäuse gingen 4 Tage post inject. nacheinander ein. Die Todesursache derselben konnte weder durch die Sektion noch durch Herzblutausstriche und angelegten Agarplatten eruiert werden.

IV. Versuchsreihe.

Versuchstier	ccm	Art der Einverleibung	Art des Filtrates	Erscheinungen
Meerschweinchen	4,0	intraperitoneal	Filtrat von 3 Woch. alten, mit Glassand verriebenen Traubenzuckeragarkulturen	Ohne Krankheitserscheinungen
"	3,0	"		
"	2,0	"		
Maus	1,0	"	Filtrat von 8 Tagen alten, mit Glassand verriebenen Agarplattenkulturen	Tot nach 4 Tagen ohne nachweisbare Ursache
"	2,0	"		
Meerschweinchen	9,0	"		Ohne Krankheitserscheinungen
"	6,0	"		

Zusammenfassung.

Wenn man die Tabellen der vier verschiedenen Versuchsreihen überblickt, so findet man, daß mit Ausnahme der Mäuse sämtliche Versuchstiere, ohne jemals Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, am Leben geblieben sind. Was den mehr oder minder rasch eingetretenen Tod der Mäuse anlangt, so habe ich bereits auf p. 54 in der ersten Versuchsreihe darauf hingewiesen, daß sich dieselben speziell zu meinen Untersuchungen nicht eignen, und zwar hauptsächlich deshalb, weil sie anscheinend intraperitoneale Einverleibung von Chemikalien nicht ohne Schaden ertragen. Bei jeder einzelnen der gestorbenen Mäuse traten kurz nach der Injektion des Filtrats keine Krankheitserscheinungen auf, welche auf eine spezifische Giftwirkung schließen lassen würden. Die Freßlust war immer gut, Benommenheit des Sensoriums, Zittern, Sträuben der Haare, nervöse oder gastrische Störungen waren nie vorhanden, sondern die Tiere waren bis kurz vor dem Tode immer munter. In der ersten Versuchsreihe waren 12 Mäuse mit Milzbrandkulturfiltraten geimpft worden.

Elf derselben starben 2—3 Tage nachher ohne nachweisbare Todesursache, und nur eine blieb, ohne Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, am Leben.

Außerdem wurden mit denselben Filtraten 6 Meerschweinchen und eine Taube geimpft, welche 5 Wochen nach der Injektion noch keinerlei Krankheitserscheinungen zeigten.

Wäre der Tod der Mäuse auf Milzbrandtoxine zurückzuführen, so hätten dieselben früher, und nicht erst nach 3—4 Tagen sterben müssen, und die Meerschweinchen, die dasselbe Material, und entsprechend höhere Dosen erhalten hatten, zum mindesten Krankheitserscheinungen zeigen, und das eine oder andere hätte verenden müssen.

In der zweiten Versuchsreihe wurden 5 Meerschweinchen mit Filtrat geimpft, welches auf p. 55 näher beschrieben worden war. Auch diese Tiere blieben ohne Krankheitserscheinungen.

In der dritten Versuchsreihe bekamen 5 Meerschweinchen Organextraktfiltrate injiziert, welche die Tiere in keiner Weise schädigten, und endlich in der vierten Versuchsreihe ertrugen 5 mit Bacillenverreibungsfiltraten geimpfte Meerschweinchen die Injektion ohne Schaden.

Auch in der letzten Versuchsreihe waren 2 Mäuse ohne nachweisbare Todesursache eingegangen.

Zusammenfassend möchte ich hervorheben, daß bei meinen Versuchen sämtliche Meerschweinchen, die mit bakterienfreien Milzbrandfiltraten geimpft worden sind, gesund geblieben sind. Daraus geht hervor, daß die Milzbrandbacillen in den verschiedenen zu den Impfungen verwendeten Substraten keine Toxine gebildet haben, und zwar weder echte Toxine noch Endotoxine, denn sowohl die Filtrate aus jüngeren als auch

aus älteren Milzbrandbacillenreinkulturen lieferten dasselbe negative Resultat.

Bei Inangriffnahme meiner Arbeit ging ich davon aus, daß bei an Milzbrand verendeten Tieren, bei denen sich Milzbrandbacillen nur an einer beschränkten Körperstelle vorfinden, der Tod sich nicht durch die sonst einleuchtende Annahme einer massenhaften Kapillarenverstopfung durch die Bacillen erklären lasse, sondern daß hier wohl eine Toxinwirkung in Frage komme. Nachdem ich aber bei meinen Versuchen weder echte noch intracelluläre Milzbrandgifte nachweisen konnte, so bleibt die Todesursache der fraglichen Tiere unerklärt.

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für Seuchenlehre der Königl. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart angefertigt. Dem Vorstand dieses Instituts, Herrn Prof. Dr. Reinhardt, spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und das den Untersuchungen entgegengebrachte Interesse meinen aufrichtigen Dank aus.

Literatur.

- 1) Czaplewski, Ueber die Immunität der Tauben gegen Milzbrand. (Zeitschr. f. Hyg. 1892.)
- 2) Kolle-Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 2. Aufl. 1908.
- 3) Kolle-Wassermann, Sobernheim, Untersuchungen über Milzbrandgifte. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 1 u. 2. 1908.)
- 4) Brieger u. Fraenkel, Bakteriengifte. (Berlin. klin. Wochenschr. 1890. No. 11 u. 12.)
- 5) Conradi, Zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899.)
- 6) Bail, Problem der Milzbrandinfektion. (Wissenschaftl. Gesellsch. deutsch. Aerzte in Böhmen.)
- 7) —, Centralbl. f. Bakt. Bd. 8.
- 8) Stein, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36. 1908.
- 9) Pfersdorff, [Inaug.-Dissert.] Bern 1903; Zeitschr. f. Tiermed. 1904. H. 1.
- 10) Kitt, Bakterienkunde. 1908.
- 11) —, Deutsch. Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 15. 1889.
- 12) Kraus u. Levaditi, Handb. d. Technik u. Methodik. d. Immunitätsforsch. Bd. 1 u. 2. 1908.
- 13) —, Jahresber. über die Ergebnisse d. Immunitätsforsch. Bd. 5. 1910.
- 14) Fröhner, Eugen, Arzneimittellehre f. Tierärzte. 6. Aufl. 1903.
- 15) Hofherr, Experimentelle Beiträge zur Milzbrandinfektion des Geflügels durch Fütterung. [Inaug.-Dissert.] Gießen 1910.
- 16) Petermann, Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 6. 1892. p. 131.
- 17) Friedberger u. Fröhner, Lehrbuch d. spez. Pathologie u. Therapie d. Haus-säugetiere. 1910.
- 18) Buchner, Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.
- 19) Lubarsch, Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889.
- 20) Metschnikoff, Immunität. (Handb. d. Hyg. Bd. 9. Jena 1897.)
- 21) Osol, [Inaug.-Dissert.] Dorpat 1885.
- 22) Hoffa, Die Natur des Milzbrandgiftes. Wiesbaden 1886.
- 23) Martin, S., (Ref.) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1891. p. 290.

Nachdruck verboten.

Beziehungen der Helminthen und Acari zur Geschwulst-ätiologie.

XVII. Mitteilung¹⁾.

Von Dr. E. Saul, Berlin.

Mit 2 Tafeln.

Marchand²⁾ hat als erster unter den Medizinern den Gedanken ausgesprochen, daß Tumoren durch toxische Stoffwechselprodukte hervorgerufen werden können. Er begründet diese These, indem er auf die hypertrophischen und hyperplastischen Prozesse hinweist, die im Gefolge der Gravidität auftreten. Nach dem Tode des befruchteten Ovulums können diese Prozesse die physiologischen Grenzen überschreiten und das Chorionepitheliom hervorrufen.

In den Fällen, wo übertragbare Tumoren endemisch auftreten, müssen wir im allgemeinen annehmen, daß die geschwulsterregenden Stoffwechselprodukte von Parasiten stammen. Die Untersuchungen von Rehn³⁾, Leichtenstern⁴⁾ und Leuenberger⁵⁾ lehren, daß auch toxische Stoffe anderer Provenienz geschwulsterregend wirken. Diese Forscher beobachteten Endemien von gutartigen und bösartigen Harnblasengeschwülsten, die bei Arbeitern der Anilinfarbenindustrie auftraten: Papillome, Carcinome und Carcinosarkome.

Aus den Erfahrungen, die sich auf den *Botriocephalus latus*, die *Filaria Bancrofti*, die *Filaria Medinensis*, die *Filaria rhytipleurites*, den Bilharzia-Wurm, die Kedani-Milbe, die Notoedres-Milbe, die Phytoptus-Milbe und die Tarsionemus-Milbe beziehen, ergibt sich die Folgerung, daß Helminthen und Milben toxische und geschwulsterregende Eigenschaften besitzen. — Nachdem Askanazy⁶⁾ das *Distomum felineum* in einem Lebercarcinom des Menschen nachgewiesen hatte, fand Borrel⁷⁾ in Mäusecarcinomen, Mäusesarkomen und Mäuselymphomen Helminthen oder deren Trümmer, in einem Sarkom der Mäuseleber und einem Adenocarcinom der Mäuseiere je einen *Cysticercus*, und in dem Blute einer Krebsmaus: Nematoden. Borrel vermutete, daß diese Parasiten als Zwischenwirte von Geschwulsterregern wirken könnten. Demgegenüber durfte ich darauf hinweisen, daß die Helminthen an und für sich toxische und geschwulsterregende Eigenschaften besitzen. Diese Wirkungen beobachtete ich bei Mäusen, denen der *Cysticercus fasciolaris* — ein Schmarotzer der Mäuseleber — subkutan implantiert worden war⁸⁾. — Die Versuche von Fibiger⁹⁾ lehren, daß als Erreger der bei Ratten endemisch auftretenden gutartigen und bösartigen Epi-

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Bd. 66. 1912. p. 515; ebenda Bd. 59. 1911. p. 400 u. ff. usw

2) Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 39 u. 40.

3) Arch. f. klin. Chir. 1895. Bd. 50. S. 588 u. ff.

4) Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 45. p. 709.

5) v. Bruns' Beiträge zur klin. Chir. Bd. 80. 1912. p. 208 u. ff.

6) Centralbl. f. Bakt. Bd. 28. 1900.

7) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 7. 1909. p. 265 u. ff.

8) Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1908. p. 444; ebenda. Bd. 49. 1909. p. 80 u. ff.; ebenda. Bd. 50. 1909. p. 438. — Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 49. p. 2206.

9) Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 7 u. Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 30. 1913

theliome des Magendarmkanals Filarien in Betracht kommen. Ihre Zwischenwirte sind nach den Resultaten des türkischen Forschers Osman Galeb¹⁾, die Fibiger bestätigt hat, Schaben (Schwaben). Fibiger gebührt das Verdienst, die bei Ratten endemisch auftretenden Tumoren des Magendarmkanals histologisch untersucht und die ätiologischen Beziehungen der Helminthen zu den Epitheliomen aufs neue experimentell erhärtet zu haben. Der Befund einer neuen Filarie dürfte in den Versuchen Fibigers ausschließlich zoologisches Interesse besitzen, weil erfahrungsgemäß alle Filarien, die Gewebeparasiten sind, Tumoren hervorrufen.

Nachdem die geschwulsterregende Bedeutung der Milben in der Pflanzenpathologie anerkannt war, unternahm Borrel²⁾ den Versuch, die *Demodex*-Milben für die Aetiologie derjenigen menschlichen und tierischen Tumoren in Anspruch zu nehmen, die auf der Haut oder ihren Anhangsgebilden auftreten. Borrel vermutete, daß die *Demodex*-Milben als Zwischenwirte von Geschwulsterregern fungieren. Diese Anschauung wurde von Orth³⁾, Tsunoda⁴⁾, Dahl⁵⁾ und mir⁶⁾ widerlegt. Da aus den Abbildungen Borels ersichtlich war, daß er durch die Technik des Einbettens, Schneidens und Färbens die Milben bis zur Unkenntlichkeit entstellt hatte, so versuchte ich, dieselben aus dem Geschwulstgewebe zu isolieren. Auf diesem Wege fand ich in Carcinomen, Sarkomen, Fibromen und Kystomen des weiblichen Genitaltrakts, sowie in Mäusecarcinomen, einem Hundesarkom und in der Hufkrebsgeschwulst eines Pferdes Milben, die schon bei oberflächlicher Betrachtung als verschieden von der Milbengattung *Demodex* imponierten. Dahl⁷⁾ konstatierte, daß es sich um neue Milbenarten handelte, daß die Milben der menschlichen und tierischen Tumoren voneinander verschieden waren, und daß sie zu der Gattung der *Tarsonemus*-Milben gehörten, die in der Pflanzenpathologie als Geschwulsterreger bekannt sind. Bald darauf fanden G. Blanc und M. Rollet⁸⁾ die von Dahl und mir als *Tarsonemus hominis* beschriebene neue Milbenart in einem Falle von „hartnäckigem Blasenkatarrh“. Alsdann publizierte Borrel⁹⁾, daß er eine bisher unbekannte Milbenart in dem Talgdrüsenadenom einer Maus gefunden habe. Und Ascher¹⁰⁾ sowie v. Wasiliewski¹¹⁾ berichteten über eine Milben-Endemie bei Ratten. Die befallenen Tiere erkrankten an papillomatösen Tumoren, denen sie unter kachektischen Symptomen erlagen. Mittels der infizierten Käfige konnten die Geschwülste willkürlich hervorgerufen werden.

Wie ich bereits in früheren Veröffentlichungen dargelegt habe, gestatten die statistischen, kasuistischen, epidemiologischen, histologischen

- 1) Compt. Rend. de l'Acad. franç. T. 87. 1878. p. 75 u. ff.
- 2) Annal. de l'Inst. Pasteur 1909.
- 3) Berlin. klin. Wochenschr. 1910. No. 10. p. 452.
- 4) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 8. 1910.
- 5) Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 7. p. 338, u. Centralbl. f. Bakt. Bd. 53. 1910.
- 6) Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 7. p. 338, u. Centralbl. f. Bakt. Bd. 55. 1910.
- 7) l. c.
- 8) Compt. Rend. de la Soc. de Biol. T. 69. 1910.
- 9) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1910.
- 10) Arch. f. Dermatol. Bd. 101. 1910.
- 11) Tagung d. freien Vereinigung f. Mikrobiologie. Berlin 1912

und therapeutischen Erfahrungen, Milben für die Geschwulsttätologie des Menschen und der Tiere in Anspruch zu nehmen. Es ergibt sich nun die Frage: Erklärt die Biologie parasitischer Milben die mangelnde Kontagiosität des Carcinoms sowie diejenigen Erfahrungen, die sich auf präcarcinomatöse Erkrankungen beziehen? Dies ist in der Tat der Fall, wie die Darlegungen des Veterinär-Pathologen Schindelka¹⁾ lehren.

Schindelka: „Ueber die Art und Weise, wie die Hunde die Acarus-Räude erwerben, ist nichts mit voller Sicherheit bekannt. Künstliche Uebertragungsversuche gelingen nur ausnahmsweise Das Zustandekommen der Ansteckung scheint auf einer besonderen Disposition zu beruhen, da wir einerseits aus zahllosen Beispielen wissen, daß gesunde Hunde oft jahrelang mit Acarus-kranken Hunden in der engsten Berührung gehalten werden können, ohne jemals zu erkranken, während in anderen Fällen nur eine kurzdauernde Berührung solcher Tiere zur Uebertragung und Weiterverbreitung der Acarus-Räude zu genügen scheint . . . Durch vorausgehende andere Hautkrankheiten wird eine Prädisposition für die Invasion von Räudemilben geschaffen; z. B. werden gerade solche Hautstellen, die an Herpes tonsurans erkrankt waren, mehrere Monate nach vollendeter Heilung von der Acarus-Räude befallen. Das Gleiche gilt von Anätzungen der Haut, von Ekzemen, von seborrhoischen Zuständen. Umgekehrt muß hervorgehoben werden, daß an den primär durch die Räudemilben erkrankten Hautstellen sich ebenfalls sehr leicht Pilze, wie auch andere Milben ansiedeln.“ — Soweit der Veterinär-Pathologe Schindelka.

Gegen v. Wasiliewski²⁾ möchte ich bemerken, daß Virchow in seinen Vorlesungen den Begriff Tumor definiert hat, wie folgt: „Tumor ist jede abgegrenzte Form der Anschwellung.“ Virchow hebt hervor, daß diese Definition gestattet, z. B. die Hydrocele als Tumor zu bezeichnen. Wird die „abgegrenzte Anschwellung“ durch Epithelien bedingt, so nennen wir sie Epitheliom, bei infiltrierendem Wachstum: Carcinom (malignes Epitheliom). — Da v. Dungern³⁾ bemüht ist, den Granulationsgeschwülsten eine Sonderstellung gegenüber den Sarkomen einzuräumen, so sei bemerkt, daß Virchow die aktinomykotischen Tumoren und die Perlsuchtumoren in seinem Geschwulstwerk den Sarkomen zurechnete, weil er nicht in der Lage war, die Granulationsgeschwülste von den Rundzellensarkomen morphologisch zu unterscheiden. Insbesondere zeigen die spätsyphilitischen Granulome sehr häufig das Bild großzelliger Sarkome. — Die differentielle Diagnose der Fibrome und Sarkome ist in den Grenzfällen völlig unsicher. Lubarsch⁴⁾ bekundet, daß die Ovarialfibrome trotz klinischer Gutartigkeit mikroskopisch als Sarkome imponieren können. — Rechnet man die aktinomykotischen Tumoren, die Perlsuchtumoren und die Syphilome zu den Sarkomen, so ergibt sich der Schluß, daß das Gebiet der Sarkome eine große Klasse von Geschwülsten umfaßt, die eine völlig verschieden-

1) Handbuch d. tierärztlichen Chirurgie. 1903. Bd. 6. p. 70 u. ff.

2) l. c.

3) Dtsch. med. Wochenschr. 1912. No. 25. p. 1215.

4) Lubarsch u. Ostertag, Ergebnisse d. allgem. Pathologie usw. 1895. Bd. 2. p. 352.

artige Aetiologie besitzen. Die ätiologischen Beziehungen der Helminthen und Acari zu den Sarkomen bzw. Epitheliomen möchte ich an der Hand der folgenden Photogramme schildern.

Fig. 1. Präparat eines *Cysticercus*-Stückes (*Cysticercus fasciolaris*), das einer Maus subkutan am Rücken implantiert worden war. Vergr. 1:300. Das Versuchstier zeigte Intoxikationserscheinungen: Abmagerung und klonische Krämpfe; es starb nach 4 Tagen. Bei der Sektion fand ich an der Implantationsstelle die Reste des implantierten *Cysticercus*-Stückes (Fig. 1). Man erkennt in dem regressiv veränderten Gewebe des *Cysticercus* große, ovale oder nierenförmige Gebilde, die nach der van Gieson-Färbung braunrot oder gelb erscheinen. Es handelt sich um die sogenannten „Kalkkörper“, bzw. um die ihm analogen, nicht verkalkten Formelemente des *Cysticercus fasciolaris*. Durch ihre Konturen, ihre Affinität zu Kalksalzen, ihre Resistenz gegen Alkali und ihre Fähigkeit, aus dem Gewebe des *Cysticercus* auszuwandern, sobald sie durch die Cuticula desselben nicht gehemmt werden, erinnern diese Formelemente an die Eier der Wirbellosen. Die von den Zoologen gewählte Bezeichnung „Kalkkörper“ läßt die Bedeutung dieser Formelemente völlig unklar. Mit demselben Rechte können verkalkte Bilharzia-Eier oder verkalkte Knochenzellen als „Kalkkörper“ bezeichnet werden.

Fig. 2. Rand des in Fig. 1 dargestellten *Cysticercus*-Stückes und die angrenzenden Gewebe der Maus, der dasselbe implantiert worden war. Vergr. 1:300. Um das *Cysticercus*-Stück haben sich zahlreiche Rundzellen, insbesondere Lymphocyten, versammelt. Zwischen denselben bemerkt man die ausgewanderten „Kalkkörper“ des *Cysticercus fasciolaris*. Aus Zellaggregaten dieser Art (Fig. 2) gehen Tumoren hervor, wenn das Versuchstier nicht vorzeitig an Intoxikationserscheinungen zugrunde geht.

Fig. 3. In diesem Falle erlag das Versuchstier nicht den toxischen Wirkungen des implantierten *Cysticercus*-Stückes, vielmehr trat an der Implantationsstelle ein Tumor auf, der nach 40 Tagen die Größe einer halben Haselnuß erreichte. Bei der Exstirpation fand ich in seiner Mitte das implantierte *Cysticercus*-Stück. Als ich dieses einer anderen Maus subkutan am Rücken implantierte, wurde es reaktionslos resorbiert. Nach dem mikroskopischen Befunde stand der experimentell hervorgerufene Tumor (Fig. 3) auf der Grenze von Fibrom, Sarkom und Granulationsgeschwulst; er stimmte in seiner Struktur vollkommen überein mit den Tumoren, die von den Eiern des Bilharzia-Wurmes in der Submucosa der menschlichen Harnblase hervorgerufen werden. — Die nekrotischen Massen an der Peripherie des Gesichtsfeldes entsprechen der Stelle, an der das implantierte *Cysticercus*-Stück innerhalb des Tumors lag. Darauf folgt das Gewebe der Neubildung. Dasselbe enthielt Rund-, Spindel-, Riesen-, Epitheloidzellen. Zwischen den Zellen des Tumors erkennt man die ausgewanderten „Kalkkörper“ des *Cysticercus fasciolaris*. Vergr. 1:300.

Zum Vergleich mögen die folgenden Abbildungen dienen.

Fig. 4. Uebersichtsbild eines Tumors, der in der Submucosa der menschlichen Harnblase durch Bilharzia-Eier hervorgerufen wurde. Gieson-Färbung. Vergr. 1:50. In dem Tumorgewebe sind zahlreiche Bilharzia-Eier verstreut, teils verkalkt, teils nicht verkalkt. Die histologischen Einzelheiten können bei dieser Vergrößerung nicht erkannt werden.

Fig. 5. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung; 1:300. Man erkennt, daß die Bilharzia-Eier von lymphatischen Zellaggregaten umgeben sind, zwischen denen große Spindel-, Riesen- und Epitheloidzellen auftreten. Zahlreiche Karyokinesen lehrten, daß die Zellenproliferation in lebhaftem Fortschritt begriffen war. Aus den Untersuchungen von Beijerinck¹⁾ ergibt sich die Folgerung, daß die geschwulsterregende Wirkung der Bilharzia-Eier an ihren Stoffwechselprodukten haftet. Liegen die Bilharzia-Eier in der Submucosa der Harnblase, so rufen sie Binde-substanzgeschwülste hervor, liegen sie in der Mucosa, so erregen sie gutartige oder bösartige Epitheliome. — Die im Gefolge der Bilharzia-Infektion auftretenden submukösen Geschwülste der Harnblase werden von Goebel²⁾ als Granulationsgeschwülste, von Ferguson³⁾ als Sarkome bezeichnet; Virchow lehrte, daß er außerstande sei, die Rundzellensarkome von den Granulationsgeschwülsten morphologisch zu unterscheiden.

Ich möchte später nochmals auf die Helminthen zurückkommen und wende mich zunächst zu den Acari. Während die letzteren in der Pathologie der Pflanzen und der Tiere große Bedeutung besitzen, hat man ihnen in der Pathologie des Menschen bisher nur bei der Scabies ätiologischen Wert beigelegt. In der Pflanzenpathologie sind die Acari als Erreger papillärer und cystischer Tumoren seit langer Zeit anerkannt.

Fig. 6. Längsschnitt eines cystischen pflanzlichen Tumors, der durch eine Phytoptus-Milbe hervorgerufen wurde. Osmiumfixierung May-Grünwald-Färbung. Vergr. 1:50. Man erkennt, daß in diesem Stadium der Tumorentwicklung die Milbe in keinem Kontakt mit dem Gewebe der Neubildung steht. Der helle Teil des Milbenleibes, der dem Eierstock entspricht, erschien nach der May-Grünwald-Färbung rot und granuliert, die anderen Teile der Milbe blau. Die Gewebszüge der Tumorumwandung sind konzentrisch angeordnet. Man unterscheidet den Eingangsporus, den Einführungsgang und den Fundus der Neubildung. Nachdem die Milbe das Wucherungsferment der von ihr gestochenen Zelle einverleibt hat, ist ihre Anwesenheit für die Entwicklung des Tumors nicht mehr erforderlich; sie verläßt ihn, sobald sie daselbst nicht mehr genügenden Schutz und ungenügende Nahrung findet. Die Milbe wird deshalb in alten Geschwülsten dieser Art fast niemals gefunden; sie ist auch in den jungen Geschwülsten nur in der Einzahl vorhanden und kann infolge ihrer geringen Dimensionen innerhalb einer lückenlosen Schnittserie nur in einem einzelnen Schnittpräparat nachgewiesen werden.

Fig. 7. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung; 1:100.

Fig. 8. Phytoptus-Milbe, aus einem cystischen, pflanzlichen Tumor isoliert. Vergr. 1:200. Es ist für die Phytoptus-Milben charakteristisch, daß sie der beiden letzten Beinpaare ermangeln. Im Abdomen der Milbe erkennt man den Eierstock, fast an jedem Ovulum den Eikern. Die starke Entwicklung des Eierstockes läßt auf die große Fruchtbarkeit der weiblichen Phytoptus-Milben schließen. Zum Vergleich möge die folgende Abbildung dienen.

Fig. 9. Tarsonemus-Milbe aus einem Carcinoma ovarii des Menschen isoliert. Vergr. 1:550. Die Tarsonemus-Milben sind im weib-

1) Abhandlg. d. Kgl. niederländ. Akad. d. Wissensch. Bd. 22. 1882, u. Botan. Ztg. 1888. No. 1.

2) Dtsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 66. 1903, u. Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 3. 1905.

3) The Journ. of pathol. and bacteriol. Vol. 16. 1911.

lichen Geschlecht hauptsächlich durch die rudimentäre Entwicklung des letzten Beinpaars charakterisiert; die Milbe gehört zu einer bisher unbekannten Art der *Tarsonemus*-Milben; sie ist als neuartig gekennzeichnet durch den langen, dünnen zweigliedrigen Endteil des dritten Beinpaars, sowie durch die besonders schwache Entwicklung des vierten Beinpaars, das nur mit den Endborsten über den Rand des Hinterleibes hervorragt; auch sind die beiden Borsten des hinteren Körperendes bei der neuen Species weiter voneinander entfernt als bei den bekannten *Tarsonemus*-Milben.

Ich wende mich nun nochmals zu den Helminthen.

Fig. 10. Schnittpräparat eines pflanzlichen Tumors, der durch einen *Heterodera*-Wurm hervorgerufen wurde. Osmiumfixierung. Flemming-Färbung. Vergr. 1:50. Die chemisch-toxischen Stoffwechselprodukte des Wurms haben einzelne pflanzliche Zellkomplexe elektiv zur Hypertrophie und Hyperplasie gereizt und sie dadurch in Tumorzellen verwandelt, während andere Zellkomplexe der Pflanze, obgleich sie in nächster Nähe des Wurmes liegen, keine pathologischen Veränderungen zeigen. Die Hypertrophie der Tumorzellen betrifft Kern und Protoplasma. Letzteres erscheint mit Vakuolen erfüllt.

Fig. 11. *Heterodera*-Würmer aus einer pflanzlichen Geschwulst isoliert. Vergr. 1:250. Die Helminthen der Species *Heterodera* besitzen zylindrische Gestalt; ihr Kopf ist mit einem Stachel bewaffnet, während der Schwanz abgerundet erscheint. Die Cuticula ist völlig transparent, so daß der Verdauungskanal sichtbar wird, der in gerader Richtung den Wurm durchzieht. Die *Heterodera*-Infektionen der Pflanzen zeigen zwei Perioden größter Heftigkeit: Anfang Juni und Anfang August. Eine ähnliche Periodizität besitzen die endemisch auftretenden Adenome der menschlichen Schilddrüse. (Vgl. v. Eiselsberg, Dtsch. Chir. Bd. 38. 1901. p. 60.)

Fig. 12. Schnittpräparat eines Epithelioms der menschlichen Harnblase. Gieson-Färbung. Vergr. 1:250. Man erkennt in Lücken des Epithelgewebes runde Formelemente, die Wurmeier darstellen. Sie erschienen nach der Gieson-Färbung gelb. In einem Ei hat sich ein Wurmembryo entwickelt.

Fig. 13. Schnittpräparat eines Epithelioms der menschlichen Harnblase. Gieson-Färbung. Vergr. 1:250. In einem Ei erscheint ein Wurmembryo, der dem Plasma der Eizelle sichelförmig angelagert ist.

Fig. 14. Schnittpräparat eines Epithelioms der menschlichen Harnblase. Gieson-Färbung. Vergr. 1:250. In einer Lücke des Präparates liegen mehrere ovale Formelemente verschiedener Größe, die ich als Wurmeier deute; sie erschienen nach der Gieson-Färbung gelb. In einem Ei erkennt man den exzentrisch gelegenen Kern und das Kernkörperchen. Die *Bilharzia*-Eier erreichen etwa die fünffache Größe der in den Fig. 10—13 dargestellten Wurmeier.

Ich kehre nun nochmals zu den Milben zurück.

Fig. 15. Schnittpräparat eines Epithelioms der Rattenhaut. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:50. Der Tumor saß in Form einer bohnen großen Warze auf der dem Os parietale zugewandten Fläche eines Rattenohres. Tumoren dieser Art treten bei Ratten endemisch auf. Das Präparat Fig. 15 zeigt die gesunde und die kranke Fläche des befallenen Ohres in der Sagittalebene. Man erkennt in breiten Lücken des Geschwulst-

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Fig. 1.

Kalkkörper (Eier) des *Cysticercus fasciolaris*

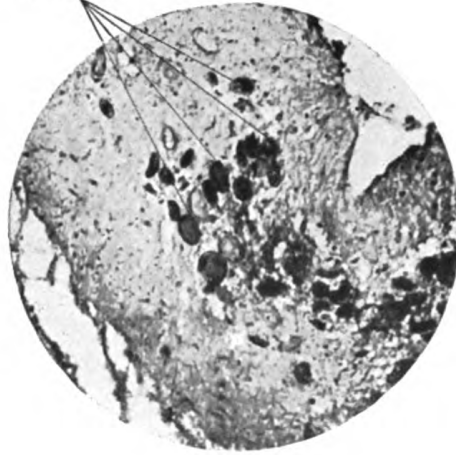
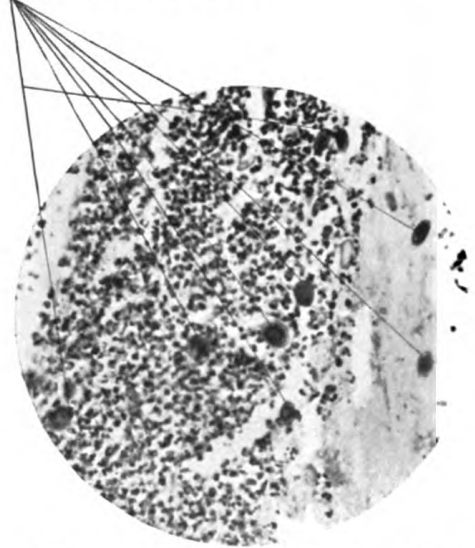


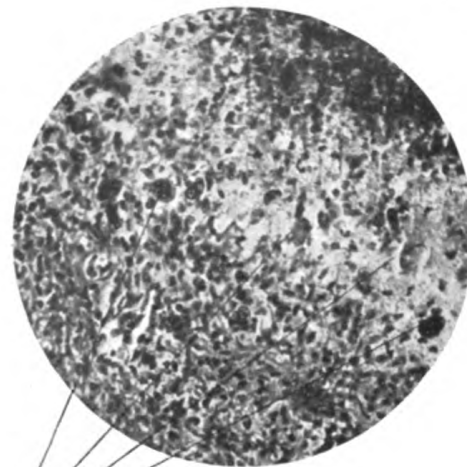
Fig. 2.

Ausgewanderte Kalkkörper (Eier) des *Cysticercus fasciolaris*



Implantationsstelle der Subcutis (Maus).

Fig. 3.

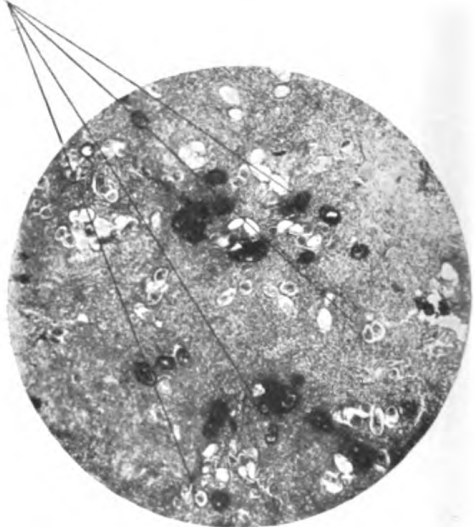


Ausgewanderte Kalkkörper (Eier) des *Cysticercus fasciolaris*

Sarkom der Maus, durch Implantation des *Cysticercus fasciolaris* künstlich hervorgerufen.

Bilharzia-Eier

Fig. 4.

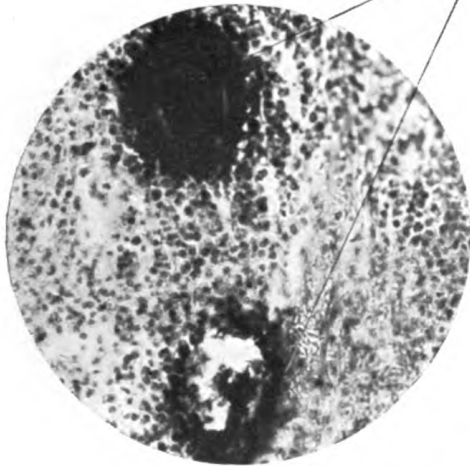


Submucöses Sarkom der menschlichen Harnblase.

Verlag von G

Fig. 5.

Bilharzia-Eier



Submucöses Sarkom der menschlichen Harnblase.

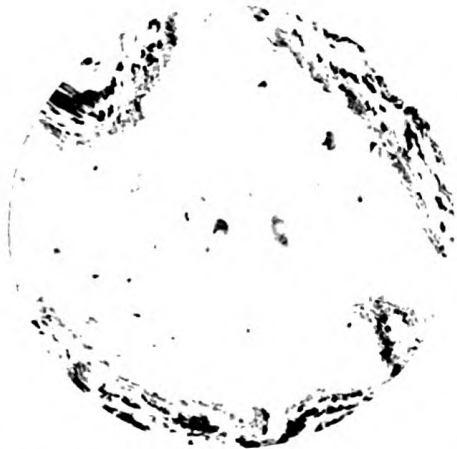
Fig. 6.

Phytoptus-Milbe



Pflanzlicher Tumor, durch eine Phytoptus-Milbe hervorgerufen.

Fig. 7.



Pflanzlicher Tumor, durch eine Phytoptus-Milbe hervorgerufen.

Fig. 8.



Phytoptus-Milbe aus pflanzl. Geschwulst isoliert.

Fischer in Jena.

PROPERTY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

1887
F. H. E.
University of Illinois at Urbana-Champaign

Fig. 9.



Tarsonemus-Milbe, aus einem Fibroma ovarii des Menschen isoliert.

Fig. 10.

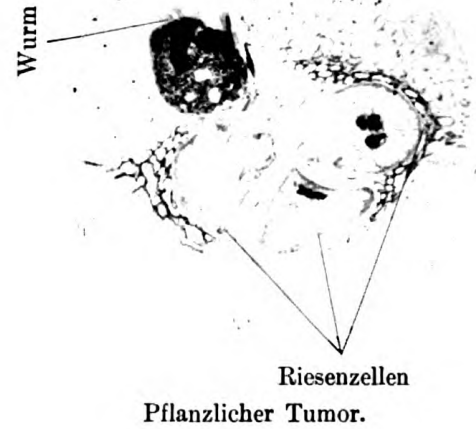
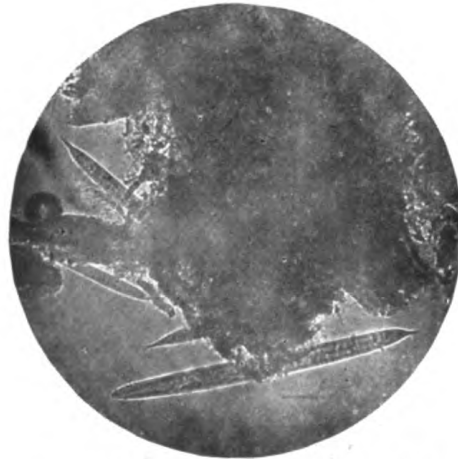
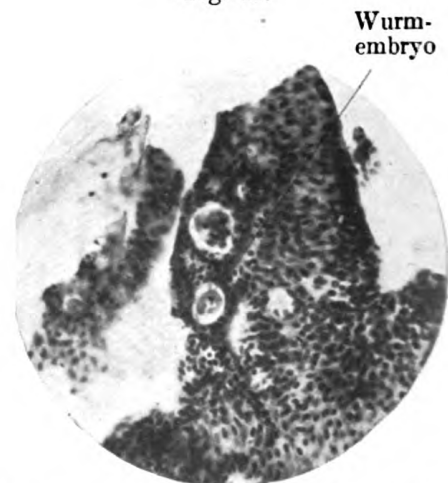


Fig. 11.



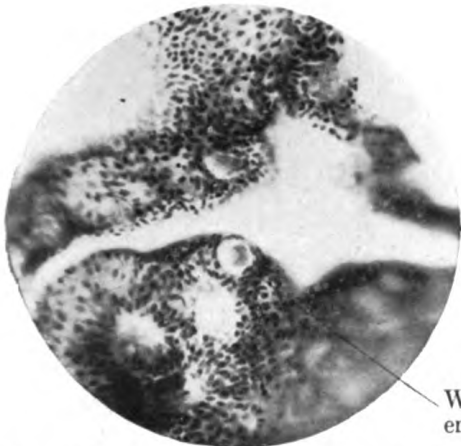
Hetrodera-Würmer, aus pflanzlicher Geschwulst isoliert.

Fig. 12.



Epitheliom der menschlichen Harnblase.

Fig. 13.

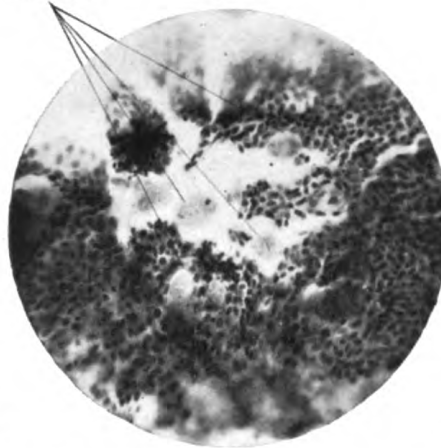


Wurm-embryo

Epitheliom der menschlichen Harnblase.

Wurmeier

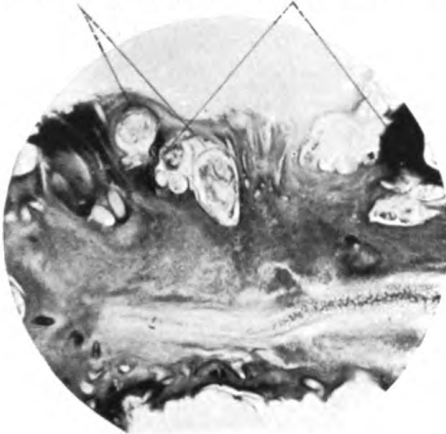
Fig. 14.



Epitheliom der menschlichen Harnblase.

Fig. 15.

Notoedres-Milben Notoedres-Milben



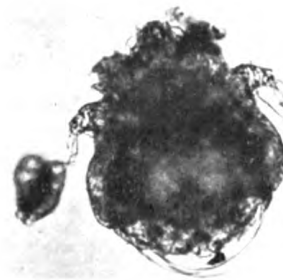
Epitheliom der Rattenhaut.

Fig. 17.



Ei einer Notoedres-Milbe, aus einem Epitheliom der Rattenhaut isoliert.

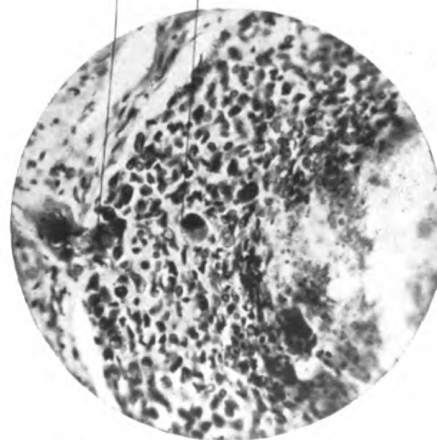
Fig. 16.



Notoedres-Milbe, aus einem Epitheliom der Rattenhaut isoliert.

Fig. 18.

Milbe Ei



Menschliches Mammacarcinom.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

gewebes Milben und Milbeneier. Die Milbeneier erschienen nach der Giemsa-Färbung blau oder rot. Die blau gefärbten Eier dürften gemäß ihrer Häufigkeit weiblichen, die rot gefärbten gemäß ihrer Seltenheit männlichen Geschlechtscharakter besitzen, da nach den Untersuchungen von Nalepa¹⁾ bei parasitischen Milben das weibliche Geschlecht bei weitem häufiger ist als das männliche. In Schnittpräparaten können Milbeneier von Coccidien morphologisch nicht unterschieden werden. — Die durch die Notoedres-Milben hervorgerufenen Epitheliome der Ratten wachsen weder infiltrierend noch metastasierend; dennoch können sie den Tod der befallenen Tiere durch Kachexie herbeiführen. Es ist deshalb die Annahme gerechtfertigt, daß chemisch-toxische Stoffwechselprodukte der Notoedres-Milben oder ihrer Eier außer den Lokalerscheinungen auch Allgemeinsymptome hervorrufen. — Die Notoedres-Milbe ist von dem französischen Forscher Mégnin²⁾ entdeckt worden; auch erkannte er ihre ätiologischen Beziehungen zu den endemisch auftretenden Hauteptitheliomen der Ratten.

Fig. 16. Notoedres-Milbe aus einem Epitheliom der Rattenhaut isoliert. Vergr. 1:300. Die Notoedres-Milben gehören zu der Gattung der Sarcptes-Milben, deren bekanntester Repräsentant die menschliche Scabies-Milbe ist. Die Notoedres-Milbe besitzt einen runden Körper, dessen Rückenfläche mit Schuppen und konzentrischen Furchen bedeckt ist. Bei den männlichen Notoedres-Milben sind sämtliche Beinpaare mit Haftscheiben bewaffnet, bei den weiblichen Notoedres-Milben zeigen die beiden hinteren Beinpaare statt der Haftscheiben: Borsten. Daher ist die Notoedres-Milbe Fig. 16 als weiblich zu bezeichnen.

Fig. 17. Ei einer Notoedres-Milbe, aus einem Epitheliom der Rattenhaut isoliert. Vergr. 1:250. Innerhalb des Eies hat sich die Milbenlarve entwickelt. Die Eimembran ist völlig transparent; man unterscheidet Kopf, Thorax und Abdomen der Larve; die Extremitäten derselben erscheinen in flektierter Stellung.

Fig. 18. Schnittpräparat eines menschlichen Mamma-Carcinoms. Hämatoxylin-Färbung. Vergr. 1:250. Zwischen den Epithelien einer Krebsalveole liegt ein rundes Formelement, das ich als Milbenei deute. Der exzentrisch gelegene Kern desselben färbte sich mit Hämatoxylin schwarzblau, während das Plasma fast farblos blieb. An der Peripherie der Krebsalveole bemerkt man eine Milbe; ihre Species konnte nach Anwendung der Technik des Einbettens, Schneidens und Färbens nicht bestimmt werden.

Helminthen habe ich in Carcinomen der äußeren Körperdecke oder ihrer Anhangsgebilde weder bei Menschen noch bei Tieren gefunden. Wie die Weltliteratur lehrt, sind Helminthen fast ausschließlich in Tumoren nachgewiesen worden, die dem Magen, dem Darm, der Leber oder der Harnblase angehörten. Nur einmal wird von einem Carcinom des Unterschenkels berichtet, das durch den Bilharzia-Wurm, bzw. seine Eier hervorgerufen war. Die Veröffentlichung des betreffenden Falles verdanken wir Kartulis. Vgl. Virchows Archiv. Bd. 152. 1898. p. 474 ff.

1) Nalepa, Originalabhandlung a. d. Gesamtgeb. d. Zoologie. Eryophyiden Stuttgart 1911, p. 204.

2) Les parasites et les maladies parasitaires chez l'homme, les animaux domestiques et les animaux sauvages etc. Paris 1880.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Entwicklung des Leucocytozoon Ziemanni (Laveran).

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Stabsarzt Prof. Dr. Doerr) und dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Dr. J. Moldovan.

Mit 1 Tafel.

Schon seit längerer Zeit mit der Untersuchung des Entwicklungskreises des *Halteridium noctuae* beschäftigt, hatte ich Gelegenheit, die Organe mehrerer mit diesem Parasiten und mit *Leucocytozoon Ziemanni* infizierten Steinkäuze zu untersuchen. Bei zwei Käuzen fanden sich nun in den Organen Parasitenformen, die, wie aus dem folgenden hervorgehen wird, als Schizonten und als Entwicklungsstadien der Gameten des *Leucocytozoon* anzusehen sind.

Ueber meine Befunde habe ich schon ganz kurz in der Soc. de Pathologie Exotique in Paris berichtet.

Die zwei Vögel waren spontan eingegangen; sie hatten während des Lebens reichlich die typischen Gameten des *Leucocytozoon* im Blute gezeigt, ohne daß die genaue Durchmusterung der Blutpräparate andere Entwicklungsstadien des Parasiten hätte erkennen lassen. Von den Organen, und zwar Lunge, Herz, Gehirn, Leber, Niere und Knochenmark — die Milz konnte nicht verarbeitet werden — wurden ca. 3 resp. 6 Stunden nach dem Tode Ausstriche angefertigt, mit Alkohol fixiert und nach Giemsa gefärbt. Die Untersuchung der Präparate ergab nun neben den typischen Gameten in einkernigen Zellen schmarotzende Parasitenformen, die sich bei genauerer Betrachtung leicht in den Entwicklungsgang einer einheitlichen Parasitenart einordnen ließen. Es kamen junge, schon endozelluläre Formen zur Beobachtung, heranwachsende Parasiten, beginnende Teilungsformen und endlich große, bis über 30 Kerne bergende Schizonten. Daneben ließ sich eine zweite Entwicklungsreihe desselben Parasiten feststellen, die von denselben jungen Formen ausgehend bald Differenzen in ihrer Kern- und Plasmastruktur zeigten, die sie als heranwachsende männliche und weibliche Gameten charakterisierten.

Die jungen Schizonten sind in Zellen eingeschlossen, die mit Rücksicht auf ihren großen runden Kern und das homogene, sich nach Giemsa blaufärbende Protoplasma wohl als junge Leukocyten anzusehen sind. Die Parasiten selbst treten schon in ihren jüngsten beobachteten Stadien in nahe Beziehung zum Kerne der Wirtszelle, den sie entweder eindellen oder aushöhlen oder endlich in seiner Form unverändert umfassen. Je nach dieser Beziehung zum Wirtszellkern ist die Form der Parasiten verschieden, abgerundet bei den ersten zwei Varietäten, gregarinenartig bei der dritten Varietät. Der Kern der jungen Parasiten ist zentral gelegen, locker gefügt, mit meist periphersitzenden Chromatinbrocken, ihr Protoplasma zeigt nach Giemsa-Färbung eine lichtblaue Färbung, leicht alveoläre Struktur ohne weitere differenzierte Inhaltsgebilde. Mit der Vergrößerung des Parasiten machen sich bald Ver-

änderungen am Kern bemerkbar, die zu einer Teilung der Kernsubstanz führen, wobei jedoch die Teilungsprodukte nach Größe, Struktur und auch nach ihrer physiologischen Bedeutung verschieden sind. Die eine größere Kernhälfte behält die lockere, chromatinarme Struktur des Ursprungskernes, während die zweite kleinere so dicht gefügt ist, daß sich nach unseren Präparaten eine Innenstruktur oft überhaupt nicht wahrnehmen läßt. Diese letztere ist es nun, welche durch rasch fortschreitende Teilung die zahlreichen Kerne des reifen Schizonten entstehen läßt, welche alle dieselbe dichte chromatinreiche Beschaffenheit zeigen. Die locker gefügte Kernhälfte teilt sich dagegen meist nicht mehr, sie wird nur mit fortschreitender Vergrößerung des Parasiten voluminöser, unscharf begrenzt und löst sich schließlich im Protoplasma auf. Es resultieren endlich sehr große ovoide Teilungsformen mit — wie erwähnt — oft über 30 dichten kleinen Kernen, und mit einem Protoplasma, das entweder, lichtblau gefärbt, vakuolenartige Gebilde beherbergt oder von zahlreichen kleinen und größeren Granulationen durchsetzt ist, von denen die ersteren die Farbe des Chromatins annehmen, während die letzteren eine blauviolette Tinktion zeigen. Es gibt jedoch auch Formen, bei denen eine intensiv blaue Färbung des Protoplasmas alle seine Struktureigentümlichkeiten und zum großen Teil auch die eingeschlossenen Kerne verdeckt. Selbst bei den größten beobachteten Formen ist der Kern der Wirtszelle noch mit dem Parasiten in Verbindung, dem letzteren entweder anliegend oder von ihm zum Teil oder ganz umfaßt. Das Protoplasma der Wirtszelle ist entweder überhaupt nicht nachweisbar, oder es umzieht als schmaler Saum den Parasiten. Weitere Entwicklungsstadien der Schizogonie, Gruppierung des Protoplasmas um die einzelnen Kerne und Zerfall der Teilungsform konnten bisher ebensowenig beobachtet werden, wie freie Merozoiten.

Die Figuren der Tafel illustrieren zum Teil das Gesagte. In einer späteren ausführlichen Mitteilung hoffe ich meine Befunde, besonders auch bezüglich der Entwicklung der Gameten, genauer wiedergeben zu können.

Die jüngsten Parasitenformen erscheinen in unseren Präparaten alle insofern gleichartig beschaffen, als Differenzen in ihrer Kern- und Plasmastruktur nicht wahrzunehmen sind. Bei ihrer Weiterentwicklung geht der größere Teil die oben beschriebene Schizogonie ein, während einzelne heranwachsen, ohne die erwähnte Kernteilung zu zeigen. Dabei kommt es zur Ausbildung zweier Typen, die sich sowohl durch ihr Protoplasma, wie auch durch die Beschaffenheit des Kernapparates deutlich voneinander unterscheiden. Die einen besitzen ein reservestoffreiches, sich nach Giemsa intensiver blau färbendes Protoplasma und einen relativ kleinen, chromatinarmen Kern, während der zweite Typus in einem lichten Protoplasma einen oft sehr voluminösen, den größeren Teil des Parasiten einnehmenden, locker gefügten Kern besitzt. Bei den jüngeren Formen dieser zwei Typen, die wohl als heranwachsende Gameten resp. Gametocyten anzusehen sind¹⁾, ist der Kern zunächst einheitlich. Mit ihrer Größenzunahme differenziert sich innerhalb des Kernes eine bald scharf begrenzte dicht gefügte Partie, die den Ursprungskern verläßt, um dann ihm anliegend oder von ihm räumlich getrennt, unverändert fortzubestehen. Es resultiert somit eine Kerndifferenzierung, welche jener

1) Ähnliche heranwachsende Gameten haben Mathis und Leger bei Leucocytozoen des Rebhuhnes und des Haushuhnes beschrieben.

bei den typischen spindelförmigen Leukocytozoogameten vollkommen entspricht. Denn auch bei den letzteren konnten wir — entgegen der Behauptung einzelner Autoren und in Uebereinstimmung mit den Angaben Schaudinns — in der überwiegenden Mehrheit eine auch lokale Sonderung jener zwei differenten Kernsubstanzen feststellen. Die Form der heranwachsenden Gameten ist meist rund, der Kern der Wirtszelle abgeplattet, oft der Länge nach ausgezogen. Von dem Protoplasma der Wirtszelle ist entweder gar nichts zu sehen, oder es umgibt als ganz schmaler Saum den Parasiten. Die Weiterentwicklung zu den typischen spindelförmigen Gameten haben wir noch nicht lückenlos feststellen können, ebensowenig die Beziehungen der letzteren zu Trypanosomenformen, die wir besonders in den Präparaten der Lunge des einen Steinkauzes nachweisen konnten. Die Trypanosomen zeigten sich deutlich in männliche und weibliche Formen differenziert und entsprachen in ihrer Größe und Struktur vollkommen den von Schaudinn als Schwärmzustände der Leukocytozoogameten beschriebenen Flagellaten.

Was nun die Verteilung der einzelnen Entwicklungsstadien auf die untersuchten Organe betrifft, so wurden Teilungsformen und heranwachsende Gameten fast ausschließlich in der Lunge und im Gehirn nachgewiesen, während sich jüngere Agamonten in spärlicher Anzahl auch in der Leber, im Herzen und vereinzelt in der Niere und im Knochenmark fanden. Letzteres erwies sich überhaupt als sehr parasitenarm; selbst die vollentwickelten Gameten, die sonst in allen untersuchten Organen anzutreffen waren, fehlten in den Ausstrichen aus dem Knochenmark fast vollständig.

Die Zuordnung der beschriebenen Entwicklungsformen in den Zeugungskreis des *Leucocytozoon Ziemanni* ist begründet durch die Form und Struktur der jüngeren Schizonten, die in ihrem Verhalten eine völlige Uebereinstimmung zeigen zu den von Wenyon beim Perlhuhn im Sudan, von Keysselitz und Mayer bei einem ostafrikanischen Perlhuhn (*Guttera pucherani* Hartl) und von v. Prowazek bei Hühnern in Deli (Sumatra) beschriebenen Entwicklungsstadien der betreffenden Leukocytozoen. Die Berechtigung unserer Auffassung wird ferner gestützt durch die Beschaffenheit der Wirtszellen und besonders auch durch die innige Beziehung der Parasiten zum Kerne der Wirtszellen. Auch die Differenzierung der Kernsubstanz in zwei verschiedene Bestandteile, die bei den beschriebenen Gametocyten eine völlige Uebereinstimmung mit dem Kernapparat der bekannten Leukocytozoogameten erkennen lassen, spricht für die Zugehörigkeit der Parasiten zum Entwicklungskreis des *L. Ziemanni*.

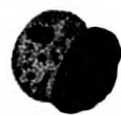
Damit erledigt sich auch der Einwand, der besonders mit Rücksicht auf den Schizogoniebefund von Aragão beim *Hämoproteus* der Taube und von Anschütz beim *Hämoproteus* des Reisvogels gemacht werden könnte. Es waren wohl auch unsere Steinkäuze reichlich mit Halteridien infiziert, die beobachtete Schizogonie weicht jedoch in wesentlichen Punkten von jener des *Halteridium columbae* und *oryzovorae* ab.

Es ist bekannt, daß Fantham über das Vorkommen einer Schizogonie bei dem *Leucocytozoon lovati* berichtet hat. Wir möchten hervorheben, daß, soweit seine Beschreibung und seine Abbildungen einen Vergleich mit unseren auch noch unvollständigen Beobachtungen zulassen, die Schizogonie des *Leucocytozoon Ziemanni* in wesentlichen Punkten abzuweichen scheint.

1.



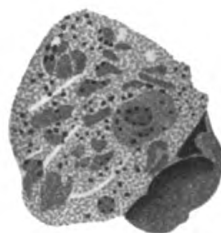
2.



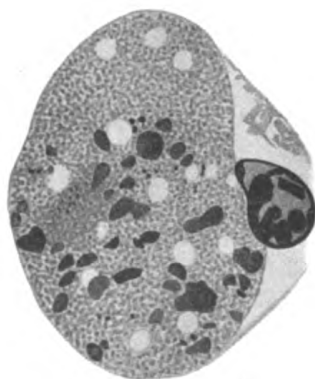
3.



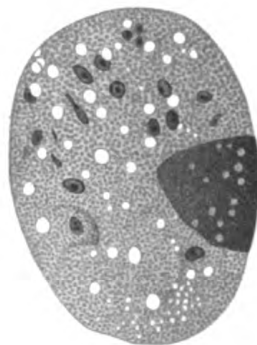
4.



5.



6.



Nachtrag bei der Korrektur: In jüngster Zeit gelang es, auch im Blute zweier Steinkäuze reichliche Schizogonieförmigkeiten der *L. Ziemanni* zu beobachten und einen annähernd 6-tägigen Entwicklungszyklus derselben festzustellen.

Literatur.

- Schaudinn, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 20. 1904.
 Moldovan, Bull. Soc. Path. Exotique. Séance du 11 juin 1913.
 Wenyon, 3. Report of the Wellcome Res. Laborat. Khartoum 1908.
 Keysselitz u. Mayer, Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1909.
 v. Prowazek, Arch. f. Protistenk. Bd. 26. 1912.
 Mathis et Leger, Res. de Parasitologie etc. au Tonkin. Paris 1911.
 Aragão, Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908.
 Anschütz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909.
 Fantham, Ann. of trop. Med. and Parasit. Bd. 4. 1910.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. Junger Schizont, den Kern der Wirtszelle umfassend.
 Fig. 2. Heranwachsender Schizont mit beginnender ungleichwertiger Teilung des Kernes; der Kern der Wirtszelle ist ausgehöhlt.
 Figg. 3—6. Fortschreitende Kernteilung; der Ausgangskern in Fig. 4 noch vorhanden, vergrößert; in Fig. 5 unscharf begrenzt, in Fig. 6 verschwunden. Die Figg. 5 und 6 geben auch die Differenzen in der Protoplasmabeschaffenheit wieder.

Nachdruck verboten.

Die Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Pest.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Genua
 (Direktor: Dr. Prof. P. Canalis).]

Von Dr. L. Piras, Assistent.

Mit 1 Figur.

Bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse wird die bakteriologische Diagnose der Pest mittels mikroskopischer Untersuchung, Züchtung auf den Nährböden und intraperitonealer oder subkutaner Impfung des Pestmaterials an kleinen Versuchstieren (Meerschweinchen, Ratten) vorgenommen, ferner noch durch Uebertragung auf die Schleimhäute oder Einreibung des Materials auf die rasierte oder enthaarte Haut. Ist der Pestbacillus isoliert worden, so kann man ihn mit Hilfe der Agglutination durch spezifisches Serum identifizieren. — Die größten Schwierigkeiten in der Sicherstellung der Diagnose entstehen durch Verfaulen des verdächtigen Materials; in diesem Falle sind die Kulturen auf den Nährmitteln nutzlos, da die saprophytischen Keime leicht die Vorhand haben können und die Tierimpfungen nach einer gewissen Zeit auch nicht zweckentsprechend verlaufen können, sei es, daß die Pesterreger durch die Fäulniskeime überwuchert worden sind, sei es, daß sie durch die Einwirkung der Fäulnisstoffe abgeschwächt sein können, oder daß endlich andere pathogene Begleitbakterien in dem zu untersuchenden Materiale vorwiegen.

Deshalb konnten Kister und Schumacher (1) (die eine der sorgfältigsten Arbeiten über die Frage lieferten) durch Prüfung von verfaulten, sicher pestinfizierten Rattenkadavern von 43 Fällen nur bei 26 eine sichere Pestdiagnose (Tierversuch!) stellen, während bei

17 Fällen die Prüfung negativ verlief. Nach 7—22-tägiger Fäulnis bei 10° C konnte mit dieser Methode die Pest regelmäßig nachgewiesen werden, am 23. Tage wurde das erste negative Resultat verzeichnet, und bei den mehr als 22 Tage aufbewahrten 11 Kadavern konnte mit Sicherheit in 5 Fällen die Pestdiagnose gestellt werden. Bei Aufbewahrung der Kadaver bei 20° C ergab der Tierversuch 10mal ein positives und 11mal ein negatives Resultat. Unter solchen Verhältnissen konnten diese Autoren nur bis zum 6. Tage die Pestdiagnose regelmäßig stellen. Schon nach 7 Tagen hatten sie auf 3 positiven 1 negativen Fall und noch weiter konnten sie von 12 nach 8—15-tägiger Aufbewahrung untersuchten Rattenkadavern nur 2 (und zwar eine am 8. und die andere am 11. Tage krepierete Ratte) als pestinfiziert erkennen.

Daher die empfundene Notwendigkeit, eine Methode ausfindig zu machen, welche die Diagnose an pestverdächtigem Material auch dann ermöglicht, wenn keine nachweisbaren Bacillen mehr enthalten sind.

Grysez und Wagon (2) versuchten es zu diesem Zwecke mit der Komplementbindung, um spezifische Antigene bei Organextrakten aus an experimenteller Pest krepiereten Laboratoriumstieren (Ratten, Meer-schweinchen) festzustellen. — Sie konnten nachweisen, daß beträchtliche Komplementmengen gebunden werden, wenn man Pestserum mit Pestorganextrakt zusammenbringt, während die Fixierung minimaler Dosen ausbleibt, wenn anstatt des Pesteserums Normal-, Diphtherie-, Tetanusserum usw. angewendet wird, oder statt des Pestorganextrakts diejenigen aus pestfreien Organen in den verschiedenen Fäulnisstadien. — Ferner haben sie wahrgenommen, daß je mehr die Fäulnis vorge-schritten ist, desto deutlicher die Reaktion wird, da die gebundene Kom-plementmenge mit zunehmender Zersetzung größer wird. — So er-hielten sie bei Pestorganen, die in physiologischer NaCl-Lösung auf-bewahrt wurden, bis zu 37 Tagen ein positives Resultat, bei den mit 1 Proz. Formol konservierten bis zum 31., mit Glyzerin dagegen nur bis zum 18. und nicht mehr am 31. Tage.

* * *

Soviel mir bekannt ist, sind diese Untersuchungen durch andere Beobachter noch nicht kontrolliert worden, weshalb ich mir die Auf-gabe stellte, einige Nachprüfungen mit Milz- und Leberextrakten¹⁾ aus krepiereten, experimentell infizierten Pestratten, die bei 18—20° C ge-halten wurden, vorzunehmen. — Dabei wurde nach der im Wasser-mannschen Laboratorium für die Herstellung des Syphilisantigens ange-wandten Technik verfahren:

Zu einem Teil des fein verriebenen Organs setzte ich 4 Teile physiologischer, 0,85-proz. Kochsalzlösung (die 0,5 Proz. Karbolsäure enthielt) zu; die Flüssigkeit kam in brauner Flasche auf 24 Stunden in den Schüttelapparat, dann wurde sie zentrifugiert und abgegossen; die vom Bodensatz befreite Flüssigkeit stellte das gebrauchsfertige Anti-gen dar.

Die Resultate sind jedoch nicht befriedigend ausgefallen; die Kom-plementfixierung war nur bis zum 6. Tage positiv.

Die Komplementbindung konnte somit in der Pestdiagnose nicht viel mehr als die Tierimpfung vom verfaulten Material leisten.

1) Diesen Organen gab ich den Vorzug, da sie gewöhnlich die bacillen-reichsten sind.

Dann wollte ich noch untersuchen, ob in den Pestorganextrakten ein spezifisches Präzipitinogen vorhanden wäre, welches imstande wäre, mit dem Präzipitin des Pestserums eine Präzipitinreaktion hervorzurufen, die zur Diagnose hätte dienen können, so wie dies zuerst A. Ascoli und Valenti (3), dann A. Ascoli (4), Bierbaum (5), Pfeiler (6), Roncaglio (7), Zibordi (8), Favero (9), Granucci (10), De Gaspari (11), Casalotti (12), Lebre (13) usw. bezüglich des Milzbrandes gefunden haben, und A. Ascoli (14) zuerst, dann Silva (15), Iwicki (16), Zagaja (17), Isabolinsky und Patzewitsch (18), Gauss (19) usw. betreffs des Schweinerotlaufs, ferner Reinhardt (20) hinsichtlich der Paratyphusinfektion bei Tieren, und Hecht (21) betreffs des Rauschbrandes.

Daß im Pestserum spezifische Präzipitine vorhanden waren, wurde schon durch die Versuche von Kraus (22) nachgewiesen; dieselben fanden ihre Bestätigung durch die Arbeiten Taranuchins (23) und Bielowowskys (24).

Meine Aufgabe war es deshalb, das spezifische Präzipitinogen in den Pestorganen herauszufinden.

Durch Vorversuche überzeugte ich mich von dem Vorhandensein der spezifischen Präzipitine im Pestserum, welches mir zur Verfügung stand (ein vom serotherapeutischen Institut Bern hergestelltes, den Pestbacillus bis zu einem Titer von 1:1000 agglutinierendes Serum) und bemühte mich, die Präzipitinmenge desselben nachzuweisen.

Als Präzipitinogen habe ich deshalb ein Pestbacillenextrakt angewendet, welches aus einer Suspension in destilliertem Wasser erhalten worden war, die 24 Stunden lang im Schüttelapparat blieb und (nach vorherigem 0,5-proz. Karbolsäurezusatz) bis zur Gewinnung einer klaren Flüssigkeit zentrifugiert wurde. Dieselbe stellte das Extrakt dar, welches nach dem Verfahren von Wassermann und Citron zur Herstellung künstlicher wässriger Aggressine gewonnen wurde.

Bei der Präzipitinreaktion verfuhr ich nach der von Fornet (25) vorgeschlagenen Technik, wonach man eine Ringbildung erhält, wenn auf präzipitinhaltigem Serum präzipitinogenhaltiges Extrakt übergeschichtet wird. Diese Methode bietet den Vorteil einer sehr deutlichen Reaktion auch bei minimalen Präzipitinogenmengen und gestattet die Anwendung unvollkommen klarer und unsteriler Flüssigkeiten, da die positive Reaktion höchstens nach 2 Stunden eintritt, also vor der Trübung, die einer reichlichen Keimentwicklung folgt.

Pestbacillen- extrakt	Pestserum	Physiol. NaCl-Lösung	Auftreten der Reaktion		
			sofort	nach 5 Min. bei 37°	nach 2 Std. bei 37°
0,5 ccm dgl.	0,1 ccm	bis zu 1 ccm	±	++	+++
"	0,05 "	dgl.	—	+	+++
"	0,025 "	"	—	+	+++
"	0,0125 "	"	—	—	++
"	0,00625 "	"	—	—	+
"	0,003125 "	"	—	—	±
"	0,0015625 "	"	—	—	—
+++ = sehr deutliche Reaktion			Diese Zeichen sind auch für die folgenden Tabellen gültig.		
++ = gut deutliche "					
+ = deutliche "					
± = fragliche "					
— = negative "					

Die Kontrollversuche mit nicht pesthaltigen Bacillenextrakten oder mit anderen Seris verliefen immer negativ.

Die erhaltenen Resultate sind in vorstehender Tabelle wiedergegeben. Dieser Versuch bewies, daß in dem zu meiner Verfügung stehenden agglutinierenden Pestserum für Pestbacillenextrakt spezifische Präzipitine vorhanden waren.

Nun schritt ich zur Feststellung des spezifischen Präzipitinogens in den Milz- und Leberextrakten aus krepiereten, experimentell infizierten Ratten und Meerschweinchen.

Die erhaltenen Resultate waren sogleich sehr befriedigend; an der Berührungsfläche des Serums mit dem Extrakt bildete sich immer, fast sofort ein Ring, welcher nach einigen Minuten am deutlichsten wurde, und nie bei den Kontrollröhrchen auftrat, die anstatt des Pestserums verdünntes oder unverdünntes, frisches oder bei 55° C inaktiviertes (Einwirkungsdauer 1—48—50 Stunden) Normalpferde-, Diphtherie-, Streptokokken-, Diplokokkenserum enthielten. Desgleichen blieb die Reaktion aus, wenn statt des Leber- oder Milzextraktes von Pest-ratten dasjenige aus an *B. typhi-murium*-, Danysz-, Milzbrand-, *B. suis* septicus-Infektion, oder an Chloroform- oder Schwefeldämpfen krepiereten Ratten angewendet wurde.

Alle zur Extraktion des Präzipitinogens versuchten Methoden, die sich ja nur durch die Extraktionsflüssigkeit unterscheiden, ergaben ebenso gute Resultate. So bewährte sich auch das zur Milzbrandpräzipitinogendarstellung von A. Ascoli vorgeschlagene Verfahren, welches darin besteht, daß man 1 Teil des zu prüfenden, fein verriebenen Organs mit 5—10 Teilen physiologischer NaCl-Lösung für 5 Minuten kocht und die abfiltrierte Flüssigkeit anwendet. Dieses Verfahren besitzt den anderen gegenüber den Vorteil der Einfachheit und Schnelligkeit, weshalb ich ihm während meiner Untersuchungen den Vorzug gab.

Zur Präzipitinogenextraktion ist das destillierte Wasser der physiologischen NaCl-Lösung vorzuziehen; bei der letzteren entsteht ein Extrakt, welches höheres spezifisches Gewicht besitzt, als dasjenige des Serums, was das Schwimmen des Extraktes in den Reagenzröhrchen erschwert, wenn man Untersuchungen mit verdünntem Serum anstellt.

Ferner kommt es häufig genug vor, daß die Extrakte selbst nach wiederholter Filtrierung durch Papier oder Asbestwolle opalisieren und für die Reaktion ungeeignet sind. — In solchen Fällen gelingt die Erhaltung einer völlig klaren Flüssigkeit nach Druckfiltrierung durch Asbestwolle.

Nach der oben beschriebenen Methode stellte ich Versuche mit Extrakten aus verschiedenen Pest-rattenorganen (Milz, Leber, Lungen, Herz, Nieren, Muskeln) an; die Resultate sind, wie aus folgender Tabelle ersichtlich, je nach den verschiedenen Organen verschieden ausgefallen:

Organe	Extrakt-menge	Pest-serum	Physiol. NaCl-Lösung	Auftreten der Präzipitinreaktion		
				sofort	nach 5 Min. bei 37°	nach 2 Std. bei 37°
Milz	0,5 ccm	0,1 ccm	bis zu 1 ccm	±	++	+++
Leber	dgl.	dgl.	dgl.	±	++	+++
Lungen	"	"	"	—	+	++
Herz	"	"	"	—	—	+
Nieren	"	"	"	—	—	+
Muskeln	"	"	"	—	—	±

Kontrollversuche, die mit nicht-pestinfizierten Organextrakten oder mit nicht-pestspezifischem Serum ausgeführt wurden, haben immer ein negatives Resultat verzeichnen lassen.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, ist die größere Präzipitinogenmenge in der Milz und in der Leber enthalten, weshalb ich bei den übrigen Untersuchungen eine Mischung der Extrakte aus diesen Organen benutzte.

* *

*

Danach beschäftigte ich mich mit der Frage, wie lange man bei Pestrattenkadavern, die der Zersetzung überlassen wurden, imstande ist, die Diagnose mittels der Präzipitinreaktion stellen zu können.

Zu diesem Zwecke impfte ich mit Pestbacillen subkutan eine gewisse Anzahl weißer und grauer Ratten¹⁾; die Kadaver wurden dann bei einer Temperatur von ungefähr 22—25° C aufbewahrt und das Milz- und Leberextrakt, wie gesagt, geprüft. — Gleichzeitig legte ich immer mit Lymphdrüsensaft, Milzpulpa und Herzblut Aufstrichkulturen auf Agar und Gelatine an. Dann impfte ich mit etwas Milzpulpa ein Meerschweinchen kutan, d. h. nach reichlichem Rasieren der Bauchhaut und Ueberstreichen derselben Stelle mit möglichst großer Materialmenge; ein anderes Tier wurde durch möglichst sterile Einführung eines Milzstückes in eine Hauttasche infiziert.

Der Uebersichtlichkeit wegen gebe ich das Protokoll eines Versuches wieder:

An Pest seit 20 Tagen kreierte, bei 22°—25° C gehaltene Ratte						
Pestorgan- extrakt	Pestserum		Physiol. NaCl-Lösung	Auftreten der Präzipitinreaktion		
				sofort	nach 5 Min. bei 37°	nach 2 Std. bei 37°
0,5 ccm	0,5	ccm	bis zu 1 ccm	+	++	+++
dgl.	0,2	"	dgl.	—	+	+++
"	0,1	"	"	—	±	+++
"	0,05	"	"	—	—	++
"	0,025	"	"	—	—	++
"	0,0125	"	"	—	—	+
"	0,00625	"	"	—	—	—

Kontrollversuche mit nicht-pesthaltigem Organextrakt oder mit spezifischem Serum verliefen immer negativ.

Zu gleicher Zeit mit diesen Reaktionen bei feststehender Extraktmenge und abnehmendem Serumquantum habe ich auch andere ausgeführt, bei welchen die Serumdosis unverändert blieb und nur die Extraktmenge abnahm.

Damit wollte ich die Verdünnungsgrenze des Extraktes bestimmen, die das Zustandekommen der Reaktion eben noch gestatten konnte.

Die Resultate dieser Untersuchungen und auch diejenigen der vorigen waren für mich von Nutzen auch für den Vergleich der bei den verschiedenen Versuchen nachweisbaren Präzipitinogenmenge und für die Feststellung möglicher Aenderungen derselben je nach dem Fäulnisstadium der Rattenkadaver.

1) Im Laufe dieser Versuche bot sich mir Gelegenheit, eine Pestratte aus einer Hafenhütte, wo eine nicht erhebliche Pestepizootie ausgebrochen war, zu untersuchen; der Kadaver war ziemlich verfault, trotzdem gelang Prof. Zirolia, dem Adjunkten im Institut, ohne große Schwierigkeiten die Isolierung des Pestbacillus mittels Meerschweinchenimpfung; die ausgeführte Präzipitinreaktion hatte ein ausgesprochen positives Resultat.

Auch diesbezüglich gebe ich das betreffende Protokoll wieder:

An Pest seit 26 Tagen kreierte und bei 22°—25° C gehaltene Ratte						
Pestorgan- extrakt	Pestserum	Physiol. NaCl-Lösung	Auftreten der Präzipitinreaktion			
			sofort	nach 5 Min. bei 37°	nach 2 Std. bei 37°	
0,5 ccm	0,1 ccm	bis zu 1 ccm	±	++	+++	
0,2 "	dgl.	dgl.	—	±	+++	
0,1 "	"	"	—	—	+++	
0,05 "	"	"	—	—	++	
0,025 "	"	"	—	—	+	
0,0125 "	"	"	—	—	±	
0,00625 "	"	"	—	—	—	

Kontrollversuche mit nicht-pesthaltigem Organextrakt oder mit nicht-spezifischem Serum verliefen immer negativ.

Die aus allen kulturell und durch kutane oder subkutane Meer-schweinchenimpfung untersuchten Ratten erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengefaßt worden:

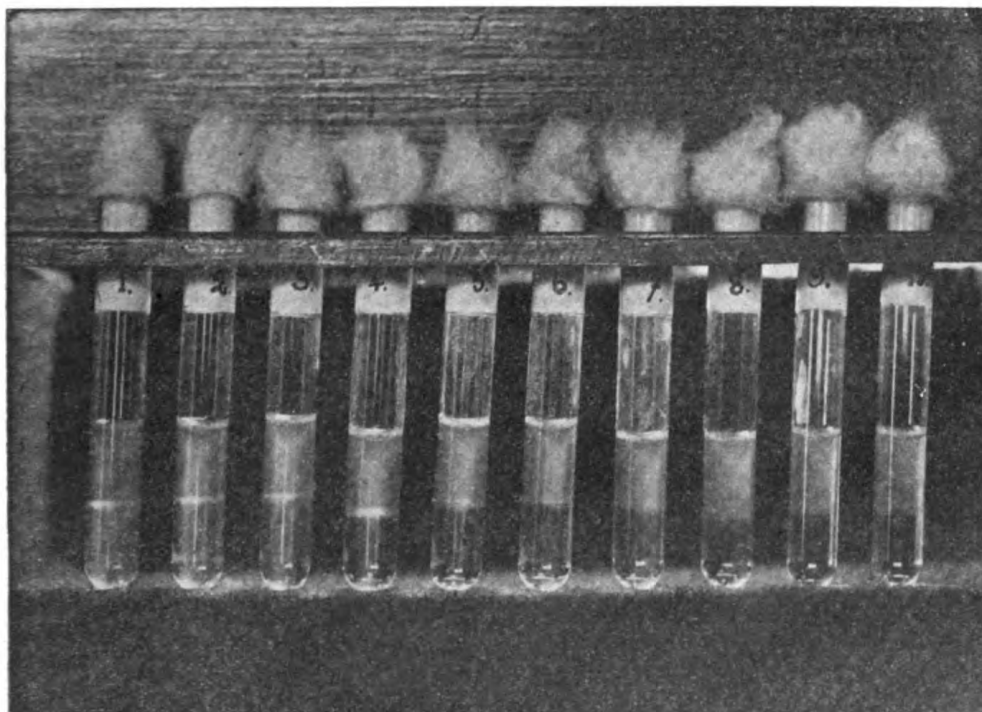
Tabelle der Untersuchungsergebnisse betreffs der Pestdiagnose mittels direkter Kulturen, kutaner, subkutaner Tierimpfung und Präzipitinreaktion bei Rattenkadavern, die auf 22—25° C gehalten wurden:

Zahl der nach dem Tode des Tieres ver- laufenen Tage	Konservie- rungs- stadium des Kadavers	Direkte Kulturen aus dem Unter- suchungs- material	Ergebnis der kutanen In- jektion beim Meer- schweinchen	Ergebnis der subkutanen Injektion beim Meer- schweinchen	Präzipitin- reaktion
1	gut	Pestbacillen	an Pest am 8. Tg.	an Pest am 6. Tg.	positiv
2	"	"	dgl. am 10. "	dgl. am 5. "	"
3	beginnende Fäulnis	"	" " 9. "	" " 7. "	"
4	"	"	" " 9. "	" " 7. "	"
5	Fäulnis	"	" " 11. "	an Mischinfekt. am 3. Tag	"
6	"	keine Pest- bacillen	" " 6. "	an Pest am 8. Tg.	"
8	"	dgl.	lebt	dgl. am 5. "	"
10	fortgeschrit- tene Fäulnis	"	an Pest am 8. Tg.	" " 9. "	"
12	"	"	lebt	" " 8. "	"
14	hochgradige Fäulnis	"	"	" lebt	"
16	"	"	"	"	"
18	"	"	"	"	"
20	"	"	"	"	"
23	"	"	"	"	"
26	"	"	"	"	"
29	"	"	"	"	"
32	"	"	"	"	"
36	beginnende Eintrocknung	"	"	"	"
40	"	"	"	"	"
44	Eintrocknung	"	"	"	"
48	"	"	"	"	"
52	vollendete Eintrocknung	"	"	"	"
56	"	"	"	"	"
68	"	"	"	"	"

Aus dieser Tabelle geht der Wert der Präzipitinreaktion in der Diagnosestellung bei verfaultem Pestmaterial hervor.

Denn, während die direkte Isolierung des *Pastbacillus* mir nur bis zum 5. Tag gelang, und diejenige durch den Tierversuch bei kutaner und subkutaner Impfung, resp. bis zum 10., aber nicht mehr am 12. (jedoch unregelmäßig nach dem 6. Tage) und bis zum 12. und nicht mehr am 14., war die Präzipitinreaktion bis zum 68. Tage positiv, also in einer Zeit, wo die Rattenkadaver schon eingetrocknet waren.

Zu bemerken ist jedoch, daß, während 0,5 ccm des Extraktes am 3. oder 4. Tage seit dem Tode der Tiere eine gute, deutliche Reaktion auch mit 0,00625 ccm Pestserum ergab, am 20. dies nur mit 0,0125 ccm möglich war, und am 56. nur mit 0,05 ccm.



Diese Figur stellt den Versuch dar, welcher mit 0,5 ccm Organextrakt auf einer vor 20 Tagen kreperten Pestratte und mit abnehmenden Pestserummengen (0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025, 0,0125, 0,00625) ausgeführt worden ist.

Der Präzipitationsring ist in dem Röhrchen 1—6 eingetreten; er ist bei Röhrchen 7 sehr schwach angedeutet; fehlt dann in den Kontrollröhrchen 8 und 9, beide 0,5 ccm Pestorganextrakt und 0,5 ccm nicht-pestspezifisches Serum enthaltend, und endlich vermißt man ihn in dem 10. Röhrchen, welches 0,5 ccm nicht-pesthaltigen Organextraktes und 0,5 ccm Pestserum enthält.

Ferner war dasselbe Extrakt wenige Tage nach dem Tode der Ratten bei einer Verdünnung von 1:120 noch präzipitinogenhaltig, was mit 0,1 ccm des Pestserums nachweisbar war, am 26. Tage aber nur bei einer Verdünnung 1:60, am 56. bei 1:30 und endlich am 58. bei 1:20.

Durch diese Versuche sind die vorigen vollauf bestätigt worden; auf Grund derselben bin ich zur Behauptung berechtigt, daß mittels der Präzipitinreaktion die Pestdiagnose bei Rattenkadavern, die der

Fäulnis überlassen worden sind, bis zum 58. Tage möglich ist, d. h. längere Zeit als mit den gewöhnlichen Tierimpfungsmethoden.

Bis jetzt erstreckten sich meine Versuche nur auf eine einzige Ratte während der einzelnen Fäulnisstadien; doch wiederholte ich zwecks genauerer Feststellung der Wichtigkeit und Zuverlässigkeit der Methode die Versuche an 30 grauen Ratten (*Mus decumanus*), welche ich dann am 10., 12. und 15. Tage nach dem Tode untersuchte; die Kadaver wurden selbstverständlich bei 22–25° C aufbewahrt.

Diese Zeitabstände wählte ich absichtlich, weil sie, wie aus den auf voriger Tabelle angegebenen Versuchen hervorging, den Zeitpunkt anzeigten, wo das Resultat der Tierimpfungen anfang, zweifelhaft, ja sogar oft negativ zu werden.

Die Resultate dieser Versuche sind auf folgender Tabelle angegeben:

Tabelle der zur Pestdiagnosestellung angestellten Versuche mit aus dem Untersuchungsmaterial direkt angelegten Kulturen, mit kutaner oder subkutaner Meerschweinchenimpfung und mit der Präzipitinreaktion bei Pestrattenkadavern, die vor 10 Tagen gestorben waren, und bei 22–25° C gehalten wurden:

Fortlaufende Zahl	Konservierungsstadium des Kadavers	Direkte Kulturen aus dem Untersuchungsmaterial	Ergebnis der kutanen Impfung beim Meerschweinchen	Ergebnis der subkutanen Impfung beim Meerschweinchen	Präzipitinreaktion
1	fortgeschrittene Fäulnis	keine Pestbacillen	das Meerschw. lebt	das Meerschw. stirbt an Pest am 9. Tag	positiv
2	"	"	dgl.	das Meerschw. lebt	"
3	"	"	das Meerschw. stirbt an Pest am 13. Tag	das Meerschw. stirbt an Pest am 8. Tag	"
4	"	"	das Meerschw. lebt	das Meerschw. stirbt an Mischinfektion am 4. Tag	"
5	"	"	das Meerschw. stirbt an Pest am 9. Tag	das Meerschw. stirbt an Pest am 11. Tag	"
6	"	"	das Meerschw. lebt	das Meerschw. lebt	"
7	"	"	das Meerschw. stirbt an Pest am 11. Tag	das Meerschw. stirbt an Pest am 8. Tag	"
8	"	"	das Meerschw. lebt	das Meerschw. stirbt an Pest am 6. Tag	"
9	"	"	dgl.	das Meerschw. lebt	"
10	"	"	das Meerschw. stirbt an Pest am 8. Tag	das Meerschw. stirbt an Mischinfektion am 4. Tag	"

Aus den Tabellen p. 77 ist zu ersehen, daß:

1) die Isolierung des Pestbacillus aus verfaulten Rattenkadavern mittels direkter Kulturen auf künstlichen Nährmitteln nach dem 10. Tage nicht gelingt;

2) die Herauszüchtung durch kutane Meerschweinchen-Impfung bei 40 Proz. der Fälle nach 10 und nie nach 12 und 15 Tagen möglich ist;

3) die subkutane Impfung dagegen bessere Resultate liefert, da 7mal an 10, also bei 70 Proz., der Fälle die Pestbacillenreinzüchtung nach 10 Tagen gelingt und bei 50 Proz. der Fälle nach 12 Tagen; doch ist bei allen Fällen nach 15 Tagen das Resultat negativ;

4) die Präzipitinreaktion bessere Resultate ergibt, da sie nach 10, 12, 15 Tagen der Fäulnis ständig positiv ausfiel.

Weiterhin bietet dieses Verfahren außer der Sicherheit und Zuverlässigkeit des Resultates auch den Vorteil der Einfachheit und

Schnelligkeit, denn während bei der Tierimpfung 3, 4 und sogar mehrere Tage zur Versuchsentscheidung nötig sind, nimmt die Präzipitinreaktion nur wenige Minuten in Anspruch.

Tabelle der zur Pestdiagnosestellung angestellten Versuche mit aus dem Untersuchungsmaterial direkt angelegten Kulturen, mit kutaner oder subkutaner Meerschweinchenimpfung und mit der Präzipitinreaktion bei Pestrattenkadavern, die vor 12 Tagen gestorben waren und bei 22—25° C gehalten wurden:

Fortlaufende Zahl	Konservierungsstadium des Kadavers	Direkte Kulturen aus dem Untersuchungsmaterial	Ergebnis der kutanen Impfung beim Meerschweinchen	Ergebnis der subkutanen Impfung beim Meerschweinchen	Präzipitinreaktion
11	fortgeschrittene Fäulnis	keine Pestbacillen	das Meerschw. lebt	das Meerschw. stirbt an Pest am 6. Tag	positiv
12	dgl.	dgl.	dgl.	stirbt an Pest am 8. Tag	„
13	„	„	„	das Meerschw. lebt	„
14	„	„	„	stirbt an Mischinfektion am 3. Tag	„
15	„	„	„	das Meerschw. lebt	„
16	„	„	„	stirbt an Pest am 10. Tag	„
17	„	„	„	das Meerschw. lebt	„
18	„	„	„	dgl.	„
19	„	„	„	stirbt an Pest am 7. Tag	„
20	„	„	„	das Meerschw. lebt	„

Tabelle der zur Pestdiagnosestellung angestellten Versuche mit aus dem Untersuchungsmaterial direkt angelegten Kulturen, mit kutaner oder subkutaner Meerschweinchenimpfung und mit der Präzipitinreaktion bei Pestrattenkadavern, die vor 15 Tagen gestorben waren und bei 22—25° C gehalten wurden:

Fortlaufende Zahl	Konservierungsstadium des Kadavers	Direkte Kulturen aus dem Untersuchungsmaterial	Ergebnis der kutanen Impfung beim Meerschweinchen	Ergebnis der subkutanen Impfung beim Meerschweinchen	Präzipitinreaktion
21	hochgradige Fäulnis	keine Pestbacillen	das Meerschw. lebt	das Meerschw. lebt	positiv
22	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	„
23	„	„	„	„	„
24	„	„	„	„	„
25	„	„	„	„	„
26	„	„	„	„	„
27	„	„	„	„	„
28	„	„	„	„	„
29	„	„	„	„	„
30	„	„	„	„	„

* * *

Die Methode kann mit Nutzen bei der Ueberwachung der Ratten in den Häfen und auf den Schiffen, die dort aus infizierten Ländern eintreffen, angewendet werden.

In der Tat kommt es häufig vor, sowohl in den Niederlagen des Hafens, als auch in denjenigen der Schiffe, daß Rattenkadaver im

Stadium weit fortgeschrittener Fäulnis aufgefunden werden, womit Untersuchungen angestellt werden müssen, um Pest festzustellen, oder auszuschließen.

In der von mir studierten Präzipitinreaktion besitzen wir zweifelsohne eine diagnostisch schnellere und zuverlässigere Methode als in der Tierimpfung.

Mitunter ereignet es sich jedoch, daß die Untersuchung der Ratten nicht ausgeführt werden kann, weil sie vernichtet oder verloren gegangen sind; dann bleiben uns die Rattenfaeces oder die damit verunreinigten Waren zurück.

Nicht ohne Interesse schien es mir daher zu sein, eine Prüfung anzustellen, um zu sehen, ob man mit Hilfe der Präzipitinreaktion imstande wäre, die pestverdächtige Herkunft dieser Faeces auch dann nachzuweisen, wenn aus denselben die Pestbacillen nicht mehr isolierbar sind.

Maassen (26) ist es gelungen, die Pestbacillen nur nach 1 Tage bei eingetrockneten Faeces und bis zum 4. Tage bei künstlich feucht gehaltenen nachzuweisen, Otto (27) fand diese Erreger, je nach der Temperatur, bei welcher die Faeces gehalten wurden, nach 1—3 Tagen lebend.

Nun nahm ich die Faeces pestgeimpfter Ratten und hielt sie im Dunkeln bei einer Durchschnittstemperatur von 15° C in einer Petri-Schale, um dann nach verschiedenen Zeitabständen etwa 10 Kotstücke mit 10—15 ccm destillierten Wassers zu verreiben. So blieben sie bei 37° C eine Stunde lang und endlich wurde damit nach der Ascolischen Methode das Extrakt angefertigt. Die erwähnte Methode ergab wegen ihrer Promptheit bessere Resultate als diejenigen anderer Verfahren.

Auf folgender Tabelle gebe ich die erhaltenen Resultate wieder:

Tabelle der Untersuchungsergebnisse, die mit bei einer Durchschnittstemperatur von 15° C im Dunkeln aufbewahrten Pestrattenfaeces erhalten worden sind:

Zahl der Tage seit der Faeces- ausscheidung	Ergebnis der subkutanen Infektion beim Meerschweinchen	Präzipitin- reaktion
1	das Meerschw. stirbt an Mischinfektion am 2. Tag	positiv
2	" " " " Pest am 8. Tag	"
3	" " " " " " 7. "	"
4	" " lebt	"
5	" " "	"
7	" " "	"
10	" " "	"
15	" " "	"
20	" " "	"
30	" " "	"
40	" " "	"

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß die Präzipitinreaktion zum Nachweis der Pest bei Rattenfaeces auch 40 Tage nach der Ausscheidung dienen kann, d. h. nach einem Zeitraume, welcher bei weitem länger ist, als derjenige, während dessen die Diagnose mittels Tierimpfung möglich ist.

Aber auch hier kann man feststellen, daß die zur Erhaltung der Reaktion nötige Serummenge mit der Aufbewahrungsdauer der Faeces zunimmt, denn während am Ausscheidungstage der Faeces bei 0,5 ccm Extrakt soviel Präzipitinogen enthalten ist, daß die Präzipitin-

reaktion auch mit 0,02 ccm Serum eintritt, erfolgt sie nach 10 Tagen nur mit 0,05 ccm, nach 20 mit 0,1 ccm und nach 40 mit 0,2 ccm.

* * *

Um nun aus meinen Versuchen den Schluß zu ziehen, glaube ich bewiesen zu haben:

1) Daß in den Organen von Tieren (Ratten und Meerschweinchen), die an experimenteller Pest eingegangen sind, ein den Pestserumpräzipitinen passendes, spezifisches Präzipitinogen vorhanden ist, welches stabil ist und auch bei äußerst verfaulten Kadavern eine charakteristische Reaktion gibt;

2) daß derselbe Stoff in den Faeces pestinfizierter Ratten vorzufinden ist;

3) daß diese streng spezifische Reaktion zur Sicherung der Pestdiagnose auch dann verwertet werden kann, wenn alle die anderen diagnostischen Verfahren wegen weit fortgeschrittener Zersetzung oder Eintrocknung im Stich lassen.

Für die Bewertung der Anwendbarkeit der von mir vorgeschlagenen Methode muß man auch bedenken, wie leicht wir das Pestserum von den Serum-produzierenden Instituten beziehen oder es sogar selbst erzeugen können.

Ich konnte feststellen, daß sowohl das Pestserum mit einem Agglutinationstiter von 1:1000, als auch dasjenige vom Titer 1:750 und das vom Seruminstitut in Bern zu therapeutischen Zwecken hergestellte Serum ebensogut für die Reaktion zu gebrauchen sind.

Im Laufe meiner Untersuchungen habe ich mir durch Immunisierung eines Kaninchens Serum verschafft; dazu genügten 2 subkutane Injektionen, eine intraperitoneale und eine intravenöse, die jeden 5. Tag ausgeführt wurden; die einverleibte Gesamtmenge betrug 9 abgetötete, 4-tägige Pestbacillenkulturen auf gewöhnlichen Schrägagarröhrchen und das erhaltene Serum besaß einen Titer, der demjenigen anderer verwendeter präzipitierenden Sera gleich war.

Daher hoffe ich, daß die Präzipitinreaktion in der Prophylaxis der Pest reichliche Anwendung finden wird; ist doch die schnelle und sichere Feststellung der Diagnose bei den Ratten, bzw. bei dem Pestmaterial in prophylaktischer Hinsicht einer der wichtigsten Punkte.

Literatur.

- 1) Kister und Schumacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51.
- 2) Grysez und Wagon, Compt. rend. soc. de Biol. T. 70.
- 3) Ascoli, A., und Valenti, Biochimica Terapia sper. T. II; La Clinica veterin. 1910 etc.
- 4) Ascoli, A., La Clinica veterin. 1911; Compt. rend. soc. Biol. T. 74; Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 58 etc.
- 5) Bierbaum, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911.
- 6) Pfeiler, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911.
- 7) Roncaglio, La Clinica veterin. 1911.
- 8) Zibordi, Il nuovo Ercolani. 1911.
- 9) Favero, La Clinica veterin. 1911.
- 10) Granucci, La Clinica veterin. 1911.
- 11) De Gasperi, Giorn. R. Accad. Veter. di Torino. 1911.
- 12) Casalotti, Biochimica e Terapie sper. T. 3.
- 13) Lebre, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1. Orig. Bd. 12.

- 14) Ascoli, A., La Clinica veterin. 1911. 1912 etc.
- 15) Silva, La Clinica veterin. 1912.
- 16) Iwicki, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912.
- 17) Zagaja, Berl. tierärztl. Wochenschr., 1912.
- 18) Isabolinsky und Patzewitsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 67.
- 19) Gauss, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Ref. Bd. 56.
- 20) Reinhart, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1912.
- 21) Hecht, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 67.
- 22) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1897.
- 23) Taranuchin, ref. in Baumgartens Jahresber. 1903.
- 24) Bielonowsky, Arch. de Sciences biol. de St. Pétersb. 1904.
- 25) Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906.
- 26) Maassen, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt Bd. 19.
- 27) Otto, Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch. 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber die Meistagminreaktion beim experimentell erzeugten Sarkom (Ratten).

[Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. Dr. K. Ishiwara, Tokio.

Bei der biologischen Diagnose der bösartigen menschlichen Geschwülste mittels verschiedener neuer serologischer Reaktionen ist die Feststellung des Zeitpunktes, wann die Reaktionen auftreten, für die Carcinomfrage von besonderer Wichtigkeit. Bisher konnte man bloß den positiven oder negativen Ausfall der Diagnose bestimmen, dagegen nicht, wann diese Reaktionen im menschlichen Organismus aufgetreten waren. Wenn es gelänge, bei den Tieren den Zeitpunkt festzustellen, wann die Reaktion eintritt, könnte man daraus doch irgendwelche Vermutungen über das Verhalten des menschlichen Organismus anstellen.

Ich habe schon darauf hingewiesen¹⁾, daß bei den experimentell erzeugten Sarkomratten die Reaktion nach Freund-Kaminer relativ sehr spät auftritt. Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. R. Kraus habe ich in Fortsetzung meiner früheren Studien auch die Meistagminreaktion bei den Sarkomratten studiert, um diesen Zeitpunkt festzustellen.

M. Ascoli und G. Izar²⁾ haben mit der Meistagminreaktion, wobei sie sich als Antigen eines Tumorextraktes bedient haben, bei 9 Sarkomratten den positiven Ausfall der Reaktion konstatiert. In dieser Arbeit aber fehlt die Angabe, in welchem Zeitpunkt nach der Impfung die Sera dieser Ratten untersucht worden sind. In einer später erschienenen Arbeit hat Izar³⁾ die Meistagminreaktion bei 4 Carcinommäusen auch mit Rücksicht auf den Zeitpunkt geprüft und kam zu folgendem Resultat: Bei Impftumoren kann das Blut schon **wenige Tage** nach der Impfung positive Reaktion aufweisen. Er konnte bei diesen 4 Mäusen, und zwar 2 Mäusen 4 Tage und den anderen 2 Mäusen 8 Tage nach der Impfung das oben genannte Resultat feststellen.

1) Wiener klin. Wochenschr. 1913. No. 10.

2) München. med. Wochenschr. 1910. p. 403.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. Orig. 1910. p. 624.

Auch Izar¹⁾ zeigte, daß er bei 3 tumortragenden Ratten, von 14—48 Tagen nach der Impfung, die positive Reaktion konstatieren konnte. Dazu hat er auch bei 6 refraktären Ratten die negative Reaktion geprüft, und kam zu folgendem Ergebnis: Das Serum von Ratten, bei denen das Sarkom nicht angegangen ist, zeigt nach 14 Tagen oder länger negative Meiostagminreaktion. Weiter konstatierte er auch, daß durch die subkutane oder intraperitoneale Einspritzung von Sarkomratten-Antigenen sowohl bei Ratten als bei den für diesen Tumor nicht empfänglichen Meerschweinchen das Auftreten der spezifischen Meiostagminreaktion hervorgerufen worden ist.

Nach diesen, oben zitierten Arbeiten scheint die Meiostagminreaktion bei den Sarkomratten bald nach der Impfung aufgetreten zu sein, und zwar zeigte das Blutserum, falls der Tumor im Organismus vorhanden war und auch weiter wachsen konnte, immer die positive Reaktion, unabhängig davon, ob der Tumor jung oder alt, klein oder groß usw. war.

Zu den Arbeiten von Ascoli und Izar ist zu bemerken, daß die zu den Untersuchungen verwendeten Antigene Tumorgewebe-Extrakt und deren Ausschläge relativ groß waren.

Mit Rücksicht auf die neueren Untersuchungen von Köhler und Luger²⁾ habe ich als Antigen den von diesen Autoren angegebenen Extrakt von Lezithin verwendet. Diese von mir benutzten Antigene, Acetonextrakt aus Lezithin (Richter), sind mehrere Monate haltbar und zeigen keine Aenderung der Ausschläge. Der Titer dieser Antigene bei der Anwendung nach Ascoli und Izar ist 1:100, aber die Ausschläge sind nicht so groß, wie die von den beiden italienischen Autoren beobachteten.

Benutzt wurde der Stalagmometer von J. Traube, und zwar bei 22° C 55,55 Tropfen Aqua destillata. Die Antigen- und Serummischung wurde 1 Stunde lang im Bruttofen auf 50° C erhalten und dann nach allmählicher Abkühlung bei Zimmertemperatur gezählt.

Neulich habe ich auch nach der von Dr. E. Ferrari und L. Urizo³⁾ angegebenen Methode Amylalkoholextrakt aus Lezithin hergestellt. Auch die Resultate der mit diesen Extrakten ausgeführten Versuche waren sehr gut.

Die zur Untersuchung gebrauchten Ratten sind nach dem Entbluten obduziert worden.

Der eine der 2 Stämme der Rattensarkome ist von Lewin, ein anderer von Landsteiner. Die Impfung der Ratten wurde stets mit frischem Rattensarkomgewebe, das weizenkorngroß geschnitten war, durch subkutane Transplantation vorgenommen.

Der Einfluß der Zimmertemperatur bei der Tropfenzählung verursacht natürlich eine gewisse Schwankung. Während der Auszählung habe ich wahrgenommen, daß diese Schwankung nach der Zimmertemperatur zwischen 18 und 20 Teilstriche des Stalagmometers beträgt. In der Umrechnung der Ausschläge in folgenden Tabellen habe ich je 20 Teilstriche für einen Tropfen gerechnet. Die technische Fehlergrenze meiner Tropfenzählung sind 2 Teilstriche.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 7. 1910. Orig. p. 624.

2) Wiener klin. Wochenschr. 1912. No. 29.

3) Wiener klin. Wochenschr. 1913. No. 16.

Tabelle I.
Normalratten.

No.	Bemerkung	Tropfenzahl von 9 ccm $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum		Ausschläge in Tropfen
		+ 1 ccm Aqua destillata	+ 1 ccm verdünntem Antigen	
1	gesund	56 + 5	57 + 1	0,80
2	"	56	57	1,00
3	"	54 + 3	54 + 13	0,50
4	"	53 + 10	54 + 2	0,60
5	Lebercyste	57 + 3	57 + 13	0,50
6	"	57 - 4	57 - 1	0,05
7	gesund	54 + 4	54 + 7	0,16
8	"	53 + 5	53 + 9	0,32
9	"	57 - 12	57	0,60
10	"	57 - 12	57	0,60
11	"	56 + 9	57 + 1	0,60
12	"	57 - 10	57 + 5	0,75
13	"	57 - 9	57 - 2	0,35
14	"	57 - 1	58 - 9	0,60
15	"	56 + 2	57	0,90
16	"	58 - 12	58 - 3	0,45
17	"	57 - 9	58 - 9	1,00
18	"	58 - 12	57 + 7	0,95
19	"	57 - 9	58 - 11	0,18
20	"	55 + 7	56 + 5	0,90
21	"	57 - 10	58 - 14	0,80
22	"	56 - 1	57 - 6	0,75
23	"	56 + 2	57	0,90
24	Lungen pneumonisch	56 - 1	57 - 2	0,95
25	gesund	56 + 1	57	0,95

Tabelle II.
Sarkomratten (Stamm Lewin).

No.	Bemerkung	Zeitabstand von der Impfung in Tagen	Tropfenzahl von 9 ccm $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum		Ausschläge in Tropfen
			+ 1 ccm Aqua destillata	+ 1 ccm verdünntem Antigen	
1	gesund	10	57 + 2	57 + 19	0,85
2	"	10	56 + 12	58 + 1	1,04
3	haselnußgroßer Tumor	15	54	54 + 13	0,65
4	"	15	54 + 1	54 + 15	0,70
5	walnußgroßer Tumor	15	56 + 2	57 - 3	0,75
6	"	15	56	57 - 4	0,80
7	"	20	54 + 1	54 + 12	0,61
8	"	20	53 + 13	54 + 7	0,66
9	klein hühnereigroßer Tumor	20	56 + 2	58	1,90
10	"	20	56 + 5	57 + 7	1,10
11	taubeneigroßer Tumor	20	56	57	1,00
12	"	26	56 - 2	58 - 12	1,50
13	nußgroßer Tumor	25	57 - 9	17 + 6	0,75
14	hühnereigroßer Tumor	29	57 + 3	59 - 11	1,30
15	taubeneigroßer Tumor	30	56 + 1	57	0,95
16	"	30	56 - 3	57 - 5	0,90
17	"	33	56 - 9	57 - 8	1,05
18	"	33	56 - 3	57 + 3	1,30
19	hühnereigroßer Tumor	40	56	57 + 4	1,20
20	taubeneigroßer Tumor	42	57 + 3	59 - 4	1,65
21	hühnereigroßer Tumor	42	58 - 12	61 - 3	3,45

Tabelle IIa.
Tumorratten (Stamm Landsteiner).

No.	Bemerkung	Zeitabstand von der Impfung in Tagen	Tropfenzahl von 9 ccm $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum		Ausschläge in Tropfen
			+ 1 ccm Aqua destillata	+ 1 ccm verdünntem Antigen	
1	taubeneigroßer Tumor	20	57 — 11	57 — 7	0,20
2	" "	20	57 — 9	18 + 1	1,05
3	" "	22	57 — 12	58 — 9	1,01
4	hühnereigroßer Tumor	22	55 + 13	56 + 13	1,00
5	" "	22	56 + 7	57 — 2	0,55
6	taubeneigroßer Tumor (Pneumonie)	27	56 — 6	57 — 8	0,90
7	taubeneigroßer Tumor	30	56 + 7	57 — 3	0,50
8	über hühnereigroßer Tumor	30	56 — 9	57 + 10	1,95
9	klein hühnereigroßer Tumor	30	56 — 3	57 + 1	1,20
10	" "	30	56 — 5	57 — 12	0,65
11	hühnereigroßer Tumor "	41	56 — 11	57 — 9	1,10
12	" "	41	56 — 3	57 — 3	1,00
13	" "	43	56 + 2	58 + 2	2,00
14	" "	47	56 + 1	57 + 8	1,40

Die Normalratten wurden bei jedem Versuche, sowohl mit den Tumorratten, wie mit den refraktären Ratten als auch mit den immunisierten Ratten zur Doppelkontrolle verglichen, worüber die Tabellen zur Uebersicht beige-schlossen sind.

Wie aus Tabelle I hervorgeht, zeigt das Serum von Normalratten die Ausschläge gewöhnlich unter 0,8 Tropfen. Seltener gab es auch 1,0 Tropfen. Infolgedessen nahm ich bei dem Hauptversuche 1,0 Tropfen aufwärts als positive Reaktion an.

Tabelle II zeigt, daß das Auftreten der Meiostragminreaktion bei den Sarkomratten meistens im späteren Wachstumsverlaufe des überimpften Tumors nachweisbar ist. Die Größe des gewachsenen Tumors hat zum positiven Ausfall der Reaktion geringe Beziehung. Auch be-

Tabelle III.
Refraktäre Ratten.

No.	Bemerkung	Zeitabstand von der Impfung in Tagen	Tropfenzahl von 9 ccm $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum		Ausschläge in Tropfen
			+ 1 ccm Aqua destillata	+ 1 ccm verdünntem Antigen	
1	Sarkom Lewin, keine Spur des Tumors	30	57 — 11	58 — 3	0,40
2	do.	32	57 + 4	58	0,80
3	"	32	56 — 1	57 — 5	0,80
4	"	39	57 — 10	57 — 7	0,01
5	"	39	56 — 4	57 — 4	1,00
6	"	40	58 — 3	59 — 1	1,01
7	Sarkom Landsteiner, keine Spur des Tumors	30	56 — 1	57 — 4	0,85
8	do.	41	57 — 11	57 — 3	0,40
9	"	41	56	57 — 7	0,65
10	"	43	57 — 9	58 — 11	0,90

6*

züglich des Tumorstammes zeigt sich kein Unterschied. Die Reaktion fiel manchmal bei den Ratten, die mit einem großen Tumor behaftet waren, negativ aus.

Die refraktären Ratten zeigten auch längere Zeit nach der Impfung keine positive Reaktion.

Tabelle IV.
Immunisierte Ratten.

No.	Bemerkung	Tropfenzahl von 9 ccm $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum		Ausschläge in Tropfen
		+ 1 ccm Aqua destillata	+ 1 ccm verdünntem Antigen	
1	gesund	57 — 1	58 + 1	1,10
2	„	56 + 7	57 + 1	0,70
3	„	56 — 4	57 + 7	1,55
4	„	56 — 4	57 — 11	0,65
5	sehr abgemagert	55 — 5	57 + 4	0,45
6	gesund	56 + 3	57 — 4	0,65
7	„	56 + 1	57 + 5	1,02
8	„	56 — 1	57 — 3	0,90

Diese 8 Ratten wurden mit frisch hergestellter Zellemlusion des Rattensarkomgewebes vom Stamm Lewin subkutan immunisiert, resp. mit der dicken Zellemlusion je 8 Tage einmal 0,5, 1,0, 2,0 und 4,0 ccm, und 10 Tage nach der letzten Einspritzung untersucht. Unter diesen 8 Ratten zeigte nur eine die positive Reaktion von 1,55 Tropfen. Im allgemeinen verhalten sich die immunisierten Ratten wie die normalen.

Zusammenfassung.

Die Meiostragminreaktion (Antigen nach Köhler u. Luger) tritt bei Ratten mit überimpftem Sarkom frühestens nach 20 Tagen auf, wird aber erst vom 40. Tage an sehr häufig. Der Eintritt der Reaktion steht in keinem Zusammenhange mit der Größe des Tumors, noch mit der Art des Sarkoms; sie fehlt bei refraktären Tieren und tritt bei mit Sarkombrei behandelten nur selten auf (1mal von 8 Tieren).

Literatur.

- 1) Ascoli, München. med. Wochenschr. 1910. No. 2.
- 2) — u. Izar, München. med. Wochenschr. 1910. No. 8.
- 3) —, Ebenda. 1910. No. 18.
- 4) —, Ebenda. 1910. No. 22.
- 5) —, Ebenda. 1910. No. 41.
- 6) —, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 17 u. 18. 1913.
- 7) Agostini u. Stabilini, Berl. klin. Wochenschr. 1910. No. 23.
- 8) —, Med. Klin. 1910. No. 29.
- 9) Arzt u. Kerl, Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 46.
- 10) Catoretti, Wien. klin. Wochenschr. 1911. No. 18.
- 11) d'Este, Berl. klin. Wochenschr. 1910. No. 19.
- 12) Fagiuoli, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 11.
- 13) Ferrari u. Urizo, Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 16.
- 14) Fukuhara, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 9. 1911.
- 15) Gashorini, München. med. Wochenschr. 1910. No. 32.
- 16) Izar u. Usuelli, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 6. 1910.

- 17) Izar u. Usuelli, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 6. 1910.
- 18) —, Ebenda. Bd. 7. 1910.
- 19) —, Biochem. Zeitschr. Bd. 29. 1910.
- 20) —, Ebenda. Bd. 40.
- 21) —, München. med. Wochenschr. 1910. No. 16.
- 22) —, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. No. 39.
- 23) —, München. med. Wochenschr. 1911. No. 40.
- 24) —, Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 33.
- 25) —, Ebenda. 1912. No. 49.
- 26) —, Ebenda. 1913. No. 18.
- 27) Iulchiero, Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 43.
- 28) Ishiware, Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 10.
- 29) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 23.
- 30) Köhler u. Luger, Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 29.
- 31) — —, Ebenda. 1913. No. 8.
- 32) Micheli u. Cattareti, München. med. Wochenschr. 1910. No. 21.
- 33) Rosenberg, Dtsch. med. Wochenschr. 1913. No. 20.
- 34) Stabilini, Berlin. klin. Wochenschr. 1910. No. 32.
- 35) Stammer, München. med. Wochenschr. 1911. No. 37.
- 36) Tedesko, München. med. Wochenschr. 1910. No. 26.
- 37) —, Wien. klin. Wochenschr. 1910. No. 26.
- 38) Vigano, München. med. Wochenschr. 1910. No. 32.
- 39) Zarzycki, Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 8.

Nachdruck verboten.

Zum vorläufigen Berichte von Dr. Guido Finzi „Ueber die Spezifität und über den diagnostischen Wert der „Thermopräzipitinreaktion“ von Ascoli bei der Erkennung des hämatischen Karbunkels und des Rotlaufs“.

Von Alberto Ascoli.

Zu obiger vorläufigen Mitteilung, die vom Autor im November und Dezember vor der Medizinischen Gesellschaft in Parma vorgetragen wurde, sehe ich mich, da die ausführliche Arbeit nach 8 Monaten immer noch nicht erschienen ist, genötigt, hinzuzufügen, daß Finzi später (was aus obiger Mitteilung nicht hervorgeht) in der Sitzung vom 14. Febr. 1913 (s. Bericht im Policlinico, Sezione Pratica. 1913. H. 13. p. 453. 30. März) erklärt hat, daß die von ihm angewandten, zum Teil verschiedenen Manipulationen (wie z. B. tagelangem Erwärmen) unterworfenen Sera auch in den Kontrollproben mit physiologischer Kochsalzlösung positive Reaktion gaben.

Diese Feststellung entzieht den Beobachtungen Finzis trotz seiner späteren Einschränkung (Clinica Veterinaria. 30. Mai 1913), daß er — der Veröffentlichung immer noch vorenthalte — Merkmale besitzt, die nicht-spezifische Ringbildung zu unterscheiden (!), jeden Boden. Es liegt denselben ein prinzipielles Mißverständnis des Begriffes Spezifität zugrunde. Denn Finzi könnte mit gleichem Rechte allen Immunitätsreaktionen jeglichen Wert absprechen, weil dieselben Erscheinungen (Agglutination, Hämolyse etc.) auch durch unspezifische Faktoren bewirkt werden können, der Hämolyse z. B., weil Hämolyse auch dann eintritt,

wenn statt Kochsalzlösung destilliertes Wasser benutzt wird, oder der Agglutination, weil sie auch durch Salzlösungen hervorgerufen werden kann.

Grundsätzliche Vorbedingung für einwandfreies Arbeiten auf diesen Gebieten ist eben die strenge Einhaltung solcher Bedingungen, unter denen die gleichen, aber nicht-spezifischen Effekte ausgeschlossen sind. Zum Beweise, daß wir jedesmal dieser Forderung gerecht geworden sind, bedienen wir uns eben der Kontrollen. Sofern diese nicht stimmen, sind die Versuche zu verwerfen. Dies ist bei den Untersuchungen Finzis der Fall, da schon die Kontrollversuche mit Kochsalzlösung bei ihm positiv ausfielen. Es ist einleuchtend, daß Blutsera, welche schon an sich mit physiologischer Kochsalzlösung allein eine positive Reaktion geben, für spezifische Präzipitationsversuche absolut unbrauchbar sind. Es erübrigt sich bei dieser Sachlage, auf die weiteren Verstöße Finzis gegen meine Vorschriften einzugehen, bei deren Einhaltung eine täglich wachsende Anzahl von Autoren meine Befunde schon bestätigt hat; ich verweise diesbezüglich auf meinen Artikel „Ergebnisse und Ausblicke der Thermopräzipitinreaktion“ in Virchows Arch. (Pertik-Gedächtnisschrift).

Nachdruck verboten.

Gewinnung keimfreier Lymphe durch Zusatz von Chinosol.

[Mitteilungen aus der Kgl. Impfanstalt zu Stettin (Vorsteher Medizinalrat Dr. Seiffert) und der chemisch-bakteriologischen Abteilung des 2. Armeekorps (Vorsteher Stabsarzt Dr. Hüne).]

Von Medizinalrat Dr. Seiffert und Stabsarzt Dr. Hüne.

Die nachstehende gemeinsame Veröffentlichung, deren beide Teile selbständig jeder für sich in den betreffenden Instituten entstanden sind, verdankt ihr Zustandekommen dem Umstande, daß beide Verfasser zu gleicher Zeit sich mit dem Chinosol beschäftigten, beide zwar auf ganz verschiedenen Gebieten, der eine (Seiffert) bei seinen Versuchen zur Herstellung einer keimfreien Lymphe, der andere (Hüne) rein chemisch-bakteriologisch zur Prüfung des Chinosols überhaupt, aber doch dadurch angeregt, die Erfahrungen auszutauschen, die gewonnenen Ergebnisse miteinander zu vergleichen und sie schließlich zu einer gemeinsamen Prüfung des in der Ueberschrift gestellten Themas zu benutzen.

1. Seiffert.

Daß der frisch gewonnene tierische Impfstoff zahllose Keime enthält, ist seit langem bekannt. Ebenso alt sind die Versuche zur Herstellung einer keimfreien Lymphe, wie das in einem Zeitalter der Bakteriologie selbstverständlich ist. Aber alle Arbeiten auf diesem Gebiete haben bisher zu einem praktisch verwertbaren Ergebnis nicht geführt.

Insbesondere sind es Staphylokokkenarten, deren ungemeine Resistenz allen Versuchen zu ihrer Abtötung widersteht. Gehören sie auch im allgemeinen zu den harmlosen Saprophyten, so finden sich doch ab

und zu welche darunter, deren intensive Gelbfärbung den Verdacht einer Pathogenität erweckt. Lymphe ohne Staphylokokken gibt es aber nicht. Sie sitzen in zahllosen Mengen auf und in der Kälberhaut, von der sie sich durch keine noch so intensiven Desinfektionsmaßnahmen restlos entfernen lassen. Es wird darauf nachher noch hingewiesen werden.

Von allen Mitteln und Verfahren, die zur Entfernung der Nebenkeime im Laufe der Zeit versucht wurden, hat sich bei uns im allgemeinen nur ein Zusatz von Glycerin, meist zusammen mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 2:1 eingebürgert. Die Japaner setzen der Lymphe Phenol zu. Wohl kommt es dabei im Laufe der Wochen zu einer Verringerung der Keime, aber nie zu einem gänzlichen Schwinden; namentlich die Staphylokokken, weiße wie gelbe, lassen sich oft noch nach Monaten reichlich nachweisen. Der Wert des Glycerins beruht nicht auf seiner keimtötenden, sondern auf seiner die Vaccine konservierenden Wirkung.

Aus sich von selbst verstehenden Gründen führte der Weg zur Herstellung einer keimfreien Lymphe zunächst zu einer möglichst vollkommenen Desinfektion des Impftieres und seiner Umgebung. Da es sich hierbei um auch sonst übliche Methoden handelt, so sei nur erwähnt, daß eine Desinfektion des Impffeldes am Kalbe mit Sublimat und Jodtinktur sich als unzweckmäßig erwies, weil der Lympheertrag dabei litt. Die Desinfektion erfolgt jetzt nach vorangegangener intensiver Abbürstung mit Wasser und Seife mit 70 Proz. Alkohol und nachheriger Abbürstung mit 2-proz. Lysollösung. Ebenso wird vor der Abnahme das Impffeld nach reichlichem Abseifen mindestens 5 Minuten lang energisch mit 2-proz. Lysollösung abgewaschen. Die Abwaschung erfolgt mit der flachen Hand, die zweckmäßig mit einem Gummihandschuh geschützt werden kann. Ein Aufreißen der Impfstellen ist dabei nie erfolgt.

Dieses Verfahren befreit die Lymphe nicht nur von einer Menge gefährlicher Keime, die aus dem Kote und Schmutze stammen, sondern ist auch, wie wir noch sehen werden, für die vorliegenden Versuche von allergrößter Bedeutung, so daß seine peinlichste Durchführung eine unerläßliche Vorbedingung für den Erfolg bildet.

Indessen blieben auch hierbei noch zahllose Keime, insbesondere Staphylokokken verschiedener Art und Stäbchen, die aus dem Heu und Stroh stammten, zurück.

Gelang es also nicht, direkt aus dem Kalbe eine keimfreie Lymphe zu gewinnen, so blieb nur übrig, sie nachträglich von ihren Keimen zu befreien. Die Vorbedingung blieb dabei bestehen, daß Wirksamkeit und Haltbarkeit der Lymphe dadurch nicht beeinträchtigt wurden.

Zwei Wege standen offen, die beide schon oft begangen waren: physikalische bzw. mechanische Methoden oder Zusatz von keimtötenden Mitteln.

Theoretische Erwägungen und das Studium der einschlägigen Literatur ließen mich von der erstgenannten Methode absehen. Alle hier in Betracht kommenden Verfahren wie Zentrifugieren, Gefrieren, Filtrieren u. dgl. waren so oft und so gründlich versucht worden, daß jeder weitere Versuch in dieser Hinsicht von vornherein als aussichtslos erschien. Dazu kam das Bedenken, daß eine nur keimfreie und nicht zugleich auch selbst mit keimtötenden Eigenschaften ausgestattete Lymphe auf dem Wege von ihrer Herstellung bis zur schließlichen Verimpfung so vielen und unkontrollierbaren Verunreinigungsmöglichkeiten ausgesetzt

ist, daß schließlich keine Gewähr mehr besteht, ob die auf dem Arm des Impflings verimpfte und hier in die Blutbahn inokulierte Lymphe ihre mühsam erzielte Keimfreiheit überhaupt noch besitzt.

So war also der Weg und das Ziel festgelegt: es galt ein Mittel zu finden, daß als keimtötender Zusatz zur Lymphe brauchbar war.

Um nicht planlos unter den durch die chemische Polypragmasie der letzten Jahrzehnte geschaffenen Desinfektionsmitteln herum zu probieren und dadurch einen etwaigen Erfolg ganz der Zeit und dem Zufall zu überlassen, mußte zunächst eine Klassifizierung der in Betracht kommenden Mittel erfolgen. Ausgeschieden wurden 1) alle Mittel, die als verderblich für die Vaccine bereits bekannt waren oder durch ihre Verwandtschaft mit solchen Mitteln die gleiche Eigenschaft voraussetzen ließen; 2) alle Mittel, deren Giftigkeit ihre Einverleibung in die Blutbahn eines Säuglings zum mindestens als nicht ratsam erscheinen ließ.

In die erste Reihe gehört der Alkohol und die darin zu lösenden Mittel, das Formalin, die Quecksilber- und Silberpräparate, in die zweite alle direkten Gifte.

Es blieben demnach übrig im wesentlichen die aus dem Steinkohlenteer stammenden Mittel, von antiparasitären Mitteln das Chinin.

Da die von anderen angestellten Versuche die Wirkungslosigkeit der Phenole, Kresole usw. bereits erwiesen hatten, so wurde versucht, ihre bakterizide Eigenschaft durch Bindung an ein anderes Vehikel zu erhöhen. Aussichtsvoll erschien bei den ersten Versuchen der Ersatz des Glycerins durch Kaninchenserum mit einem Zusatz von $\frac{1}{4}$ Proz. Trikresol. Die Zahl der auf der Agarplatte wachsenden Keime nahm in ganz erheblicher Weise ab, die Serumplatte blieb überhaupt steril. Ein weiteres Resultat ließ sich aber nicht erreichen, es blieb bei einer Keimverminderung, kam aber zu keiner Keimfreiheit. Durch Verimpfung dieser keimarmen Lymphe auf Kaninchen ließ sich übrigens eine recht wirksame Lapine gewinnen, eine Tatsache, die sich bei den späteren Versuchen als bedeutungsvoll erwies.

Das Chinin erwies sich zwar der Vaccine gegenüber als völlig indifferent, ebenso aber auch gegen die Staphylokokken.

Dem Namen nach ähnlich und dadurch vom Chinin aus beim Suchen nach einem keimtötenden Chininderivat in die Versuchsreihe aufgenommen, wenn auch mit diesem höchstens in der Grundformel verwandt, ist das Chinosol. Seine Zusammensetzung ließ eine schädigende Einwirkung auf die Vaccine nicht voraussetzen, seine Ungiftigkeit war längst festgestellt, dabei wurden ihm stark desinfizierende Eigenschaften nachgerühmt.

Zunächst wurde die Einwirkung auf das Vaccinevirus geprüft. Diese Prüfung erfolgte wie alle diese Vorversuche aus Sparsamkeitsgründen mit Lapine. Die chinosolhaltige Lapine ließ sich mit vorzüglichem Erfolge wieder auf Kaninchen verimpfen.

Weniger befriedigend fielen zunächst die Versuche hinsichtlich der Sterilisierung der Lymphe aus. Die Resultate waren sehr ungleich. Ab und zu blieb eine Probe steril, bei anderen wuchsen mehr oder weniger Keime. Bei weiterer Beobachtung stellte sich aber ein Unterschied in dieser Beziehung heraus, der zu denken gab und schließlich eine ausschlaggebende Bedeutung gewann. Die steril gebliebenen Proben waren mit völlig flüssigem Material angestellt worden, die nicht sterilen dagegen enthielten klumpige Lympheteilchen. Das Chinosol schien also die flüssige Lymphe wohl zu sterilisieren, nicht aber die festen Bestandteile,

die augenscheinlich davon nur umspült, nicht aber durchdrungen waren. Diese Beobachtung führte dazu, die Versuche so einzurichten, daß die Lymphe möglichst fein verrieben und dabei vollständig von dem Chinosol durchtränkt wurde. Das Chinosol mußte zu diesem Behufe, da eine absolut flüssige Lymphe praktisch nicht herstellbar ist, in die festen Lympheteilchen hineingepreßt werden. Die Versuche mußten also zunächst mit einem so reichlichen Material angestellt werden, daß im Gegensatz zu der mit der Hand bereiteten Lapine ihre maschinelle Verarbeitung, die eine möglichst feine Verreibung und den zur Preßwirkung nötigen Druck gewährleistete, ermöglicht wurde. Das Verfahren gestaltete sich nach manchen Fehlversuchen schließlich folgendermaßen. Die gesamte Ernte von einem Kalbe oder, wo die Ernte zu gering war, von zwei Kälbern, wurde mit dem Chinosolzusatz zunächst in der Döhrringschen Lymphemühle vermahlen. Um den nötigen Grad von Feinheit und zugleich die erforderliche Preßwirkung zu erzielen, wurden die Glaswalzen sorgfältig auf vollkommenes Aufeinanderpassen ihrer Flächen geprüft und zugleich neuere stärkere Federn eingezogen. Das ist ein ungemein wichtiger Umstand, dessen Vernachlässigung zu Fehlergebnissen führt. Dieses Durchmahlen wurde mindestens 6mal wiederholt. Darauf kam die Lymphe für einige Stunden in eine durch die Wasserleitung getriebene Glasmühle, in der die innige Vermischung der Lymphe mit dem Chinosol durch das andauernde Umherrühren vervollständigt wurde.

Diese Versuche führten nun zu einem vollen Erfolge. Es gelang, eine völlig keimfreie und dabei durchaus wirksame und haltbare Lymphe herzustellen.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen trat noch ein weiteres sehr wichtiges Moment zutage. Bei den ersten erfolgreichen Versuchen stammte der Rohstoff von Kälbern, bei denen das Impffeld sowohl vor der Impfung wie vor der Abnahme in der vorher erwähnten subtilen Weise desinfiziert worden war. Bei späteren Versuchen wurde die Lysolabwaschung fortgelassen, das Impffeld vor der Abnahme nur mit sterilem Wasser gereinigt. Das Resultat war eine ganz auffällige Verzögerung des Eintritts der Keimfreiheit. Durch die erwähnte intensive Anwendung des Lysols wurden also augenscheinlich die Keime, wenn auch nicht abgetötet, so doch so weit geschwächt, daß sie dem Chinosol einen erheblich geringeren Widerstand leisteten. Die sorgfältige Desinfektion des Impffeldes in der vorher angegebenen Weise ist also ein wichtiger Faktor bei der Herstellung der keimfreien Lymphe, der nicht vernachlässigt werden darf.

Am wichtigsten war nun die Feststellung, in welcher Stärke das Chinosol der Lymphe zuzusetzen ist. Die Prüfung dieser Frage wurde erschwert durch die inkonstante Beschaffenheit der Lymphe. Hätte das wirksame Prinzip der Lymphe immer die gleiche Stärke und Lebensdauer, wären die darin befindlichen Keime stets von gleicher Art, Menge und Virulenz, so könnten sich die Untersuchungen einfach schematisch gestalten. Man nähme eine Reihe von Lympheproben mit abgestuftem Chinosolgehalt, bewahrte sie unter gleichen Bedingungen auf und wartete unter regelmäßigen Nachprüfungen das Resultat ab. Da die genannten Faktoren aber großen Schwankungen unterliegen, besteht die Gefahr, daß das Ergebnis ausschließlich der Wirkung des Zusatzmittels zugeschrieben wird, während es in den besonderen Eigenschaften der Lymphe selbst

begründet ist. Dazu kommt noch der Einfluß der für die Herstellung der Lymphyne aufgestellten Regeln. Einmalige Untersuchungen können daher weder in besonders günstigen noch besonders ungünstigem Sinne verwertet werden. Nur eine größere Beobachtungsreihe gibt brauchbare Durchschnittsmasse. Unter diesem Vorbehalte gebe ich folgende Zahlen an, wie sie sich bei meinen bisherigen Versuchen herausgestellt haben.

Als keimbefreiend hat sich bereits ein Zusatz von 1 Prom. Chinosol erwiesen, doch dauert der Eintritt des Erfolgs etwa 14 Tage. Ganz erheblich schneller wirkt bereits ein Chinosolgehalt von 3 Prom.; hier ist die Keimfreiheit durchschnittlich nach 4—5 Tagen erreicht. Diese Konzentration entspricht also dem tatsächlichen praktischen Bedürfnisse, da eine noch frühere Sterilisierung im allgemeinen keine erkennbaren Vorteile hat, andererseits die im Verhältnis zur 1-prom. Lösung schnell eintretende Wirkung noch Frist zur weiteren Beobachtung und Erprobung der Lymphyne gewährt.

Mit diesem Chinosolgehalt hat sich die Lymphyne bis jetzt noch nach 74 Tagen bei der Verimpfung auf Kinder als wirksam erwiesen.

Bei stärkerer Konzentration trat die Sterilisierung noch schneller ein, bei 10-prom. Lösungen oft schon nach 24 Stunden. Ob diese starken Konzentrationen aber auch ebenso gute Resultate hinsichtlich der Haltbarkeit und dauernden Wirksamkeit der Lymphyne ergeben werden, bleibt noch abzuwarten. Die bisherigen Versuche damit können noch nicht als maßgebend angesehen werden, da die einzige Möglichkeit, diese Lymphyne an Kindern zu erproben, zu einer Zeit bestand, als nur eine nach einem bereits wieder verlassenen, unzweckmäßigen Verfahren hergestellte Lymphyne zur Verfügung stand.

Man könnte theoretische Bedenken insofern erheben, ob ein 3-prom. Chinosolgehalt auch die wirkliche Garantie für Keimfreiheit gewährt, da bei Laboratoriumsuntersuchungen mit wässrigen 3-prom. Chinosollösungen nicht gleich gute Resultate erzielt werden. Hier tritt nun offenbar die vorher erwähnte Tatsache in Erscheinung, daß durch die intensive Desinfektion des Impffeldes die Chinosolwirkung unterstützt wird. Jedenfalls haben alle meine immer wiederholten und nachgeprüften Untersuchungen stets das gleiche Resultat der völligen Keimfreiheit gehabt.

Um diese Ergebnisse durch eine besonders autoritative Untersuchung zu kontrollieren, wurde eine Probe von 1-prom. Chinosollymphe dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald zur Prüfung auf Keimfreiheit übersandt. Die Antwort ging summarisch dahin, daß in der Lymphyne mit den üblichen Untersuchungsmethoden keine Mikroorganismen nachgewiesen werden konnten.

Es blieb noch der Einwand übrig, daß es sich nur um eine Entwicklungshemmung, nicht um eine tatsächliche Abtötung der Keime handeln könne, d. h., daß das Chinosol auch auf der Kulturplatte noch die Entwicklung der nur scheinbar abgetöteten Keime verhindere, wie es Geppert seinerzeit bezüglich des Sublimats in der Wirkung auf Milzbrandsporen nachgewiesen hat. Sublimat ist bekanntlich nicht restlos in Wasser löslich, kann daher auch nicht völlig aus dem mit ihm versetzten Medium herausgespült, sondern muß „neutralisiert“ werden. Da nun Chinosol sich aber restlos in Wasser löst, so wurden folgende Versuche angestellt. In einem Kolben mit 37° warmem, sterilisiertem Wasser, ebenso in physiologischer Kochsalzlösung, wurde die Lymphyne so aus-

geschüttelt, daß irgendein wirksamer Chinosolgehalt in der in dem Kolben befindlichen Flüssigkeit nicht mehr anzunehmen war. Die Lymphe blieb dann in lauwarmem Wasserbade (37°C , um die noch etwa lebensfähigen Keime in ihr Temperaturoptimum zu bringen), so lange stehen, bis sie sich aussedimentiert hatte; der Bodensatz, welcher sich deutlich als die ausgewaschene Lymphe markierte, wurde nach vorsichtigem Abgießen des Wassers auf Agar verimpft, ebenso der Kolben mit Agar ausgeschwenkt. Alle Platten und der Kolben blieben bei jedesmaliger Wiederholung des Versuchs bis auf gelegentliches Wachsen von Luftkeimen völlig steril.

Die Keime waren also tatsächlich abgetötet.

Ein weiterer, theoretisch möglicher Einwand wäre es, daß ich nicht erprobt hätte, ob auch Milzbrandsporen durch das angegebene Verfahren abgetötet werden. Da ich aus leicht begreiflichen Gründen keine Milzbrandsporen in meine Lymphemühle bringen, sie also auch nicht dem genannten Verfahren unterwerfen kann, so kann ich auf diese Frage nur antworten, daß Milzbrandsporen in so ausgezeichnete Weise durch einen regelrechten Anstaltsbetrieb von der Lymphe überhaupt ferngehalten werden, daß dieser Frage irgendwelche praktische Bedeutung nicht zukommt.

Als Lösungsmittel für die Lymphe bzw. das Chinosol ist nach mehreren anderen Versuchen schließlich wieder die übliche Glycerin-Kochsalzmischung gewählt worden. In dieser Zusammensetzung wird das Vaccinevirus auch bei Chinosolzusatz am sichersten konserviert. Die weniger befriedigenden Resultate der Impfungen bei Kindern mit 10-prom. Chinosollösung mögen darauf beruhen, daß hier als Lösungsmittel nur Glycerin mit destilliertem Wasser zu gleichen Teilen benutzt war. Denn Impfungen von Kaninchen mit 10-prom. Chinosollymphe unter Verwendung der Glycerin-Kochsalzmischung ergaben ein geradezu ausgezeichnetes Resultat, so daß zu hoffen steht, daß bei weiteren Versuchen derartige Lymphe sich auch bei Menschen als uneingeschränkt brauchbar erweist.

Die Herstellung der Lösungen ist dadurch sehr vereinfacht, daß das Chinosol in Tabletten zu 0,1 g im Handel käuflich ist, wodurch sich eine sehr leichte Verarbeitung ermöglicht. Man muß nur die Tabletten zuerst mit einigen Tropfen Wasser zu einem Brei verrühren, sie lösen sich dann in der Glycerin-Kochsalzlösung sofort. Das Chinosol färbt die Lymphe gelblich-grün. Bei 1-prom. Lösung ist diese Färbung noch kaum bemerkbar, auch bei 3-prom. Lösung gibt es nur einen schwach gelblichen Schimmer, während bei 10-prom. Lösungen die Lymphe ausgesprochen gelbgrün ist. Das ist mir im Laufe der Untersuchungen als ein Vorzug erschienen, da ich schließlich schon an der Färbung erkennen konnte, ob die richtige Konzentration gewählt war. Ein Versehen ist also auf diese Weise ausgeschlossen.

Nachdem die Lymphe zunächst an einer Reihe von Kaninchen erprobt und hier ihre Wirksamkeit und völlige Unschädlichkeit festgestellt war, wurde sie auch auf Kinder verimpft. Vorwiegend wurde eine 1-prom. Lösung genommen, dann eine 3-prom. Lösung, schließlich in 2 Fällen die genannte 10-prom. Lösung. Die 1-prom. und 3-prom. Lösung war bei den Impfungen 28—74 Tage alt, verimpft wurden diese Lösungen auf 170 Erstimpflinge und 473 Wiederimpflinge. Der Erfolg war bei Erstimpfungen wie bei Wiederimpfungen 100 Proz. personeller Erfolg,

bei den Erstimpfungen 98,1 Proz. Schnitterfolg, bei den Wiederimpfungen 99,3 Proz. Schnitterfolg, also ein gewiß zufriedenstellendes Resultat. Irgendein Unterschied zwischen der 1-prom. und 3-prom. Lymphe trat in keiner Weise zutage. Die Pusteln hatten durchweg ein besonders saftiges Aussehen, waren voll entwickelt, standen dabei fast ausnahmslos isoliert, intensivere Rötungen kamen keinmal vor. Sie fielen den sonstigen, mit gewöhnlicher Lymphe erzeugten Pusteln gegenüber durch ihr vorzügliches Aussehen geradezu auf, so daß sich der Eindruck förmlich aufdrängte, als ob durch das Fehlen der Nebenkeime die Vaccinewirkung zu besonderer Geltung gelangte. Es erinnerte dies an die ähnliche Erscheinung bei der Trikresol-Serumlymphe, wo diese besonders keimarme Lymphe bei der Uebertragung auf Kaninchen sich als ganz besonders wirksam erwiesen hatte. Mit der 10-prom. Lösung wurden 2 Erstimpfungen geimpft, von denen bei dem einen 2, bei dem anderen alle 4 Pusteln sich in mäßiger Weise entwickelt hatten. Die Versuche über den Gebrauch der 10-prom. Lösung werden noch fortgesetzt. Wenn sie gelängen, so würde dies ja sicher einen weiteren Fortschritt bedeuten, da eine 10-prom. Chinosollösung ganz sicher noch im Impfschnittchen eine außerordentlich desinfizierende Kraft besitzt.

Ehe ich nun zum Schlusse die gewonnenen Ergebnisse zusammenfasse, möchte ich noch auf ein ätiologisches Moment hinweisen. Der Umstand, daß die Lymphe keinerlei Mikroorganismen erkennen ließ, läßt darauf schließen, daß alle bisher in der Lymphe gefundenen Mikroorganismen mit dem Vaccineerreger nicht identisch sind. Von besonderem Interesse ist die Beantwortung der Frage, ob auch die Guarnierischen und Prowazekschen Körperchen durch das Chinosol verändert werden. Bei der großen Schwierigkeit dieser Entscheidung muß ich sie besseren Kennern auf diesem Gebiete überlassen. Jedenfalls aber brauchen ätiologische Forschungen über den Vaccineerreger sich nur auf diejenigen Gebilde zu erstrecken, die sich noch in der chinosolhaltigen Lymphe finden lassen ¹⁾.

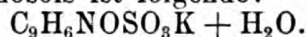
2. Hüne.

Bei der Bewertung des Chinosols als Desinfektionsmittel für Lymphe kommt es auf folgende Punkte an:

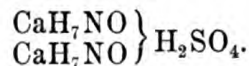
- 1) Chemisch-physikalische Eigenschaften, besonders Lagerfähigkeit in Verbindung mit Lymphe.
- 2) Wachstumshemmung bzw. Abtötung der Bakterien, und zwar:
 - a) in physiologischer Kochsalzlösung,
 - b) in eiweißhaltiger Lösung (Bouillon, Serum, Blut),
 - c) in Lymphe.
- 3) Giftigkeit.

1. Chemisch-physikalische Eigenschaften.

Die Formel des Chinosols ist folgende:



Die Fabrik gibt an:



1) Während des Druckes ist die Fornetsche Erklärung über Entdeckung des Pockenerregers erfolgt. Dieser Erreger müßte also in der angegebenen Weise gegen Chinosol völlig resistent sein!

Synonyme: Oxychinolin Kaliumsulfat,
Oxychinolin schwefelsaures Kali,
Oxychinolin Alaun.

Chinosol ist ein Derivat des Oxychinolins. Es wird durch Kochen von o-Oxychinolin in alkalischer Kaliumpyrosulfatlösung dargestellt und ist daher als Doppelverbindung von Oxychinolinsulfat mit Kaliumsulfat anzusehen. Es ist ein kristallinisches gelbes Pulver mit safranartigem Geruch und adstringierendem, aromatischem, brennendem Geschmack. Im Wasser ist es leicht löslich (fast in jedem Verhältnis), im Alkohol, je mehr er Wasser enthält, im absoluten Alkohol und Aether fast gar nicht. Die wässrige Lösung ist klar, neutral und leicht diffundierbar. Alkalisches oder kalkhaltiges Wasser ist zu vermeiden, weil Chinosol durch Alkalien (Soda!) gespalten wird und mit Kalk Niederschläge erzeugt. Chinosol gibt mit Eisenchlorid noch bei Verdünnungen 1:1000 blaugrüne Färbung und mit Bariumchlorid, Bleiacetat und Quecksilberchlorid unlösliche Verbindungen, nicht mit Zinksulfat oder Aluminiumsulfat. Chinosol kann ohne Schaden auf 100° C erhitzt werden. Mit Blut gibt es in bestimmtem Verhältnis klare Lösungen, bei Anwesenheit von mehr Blut graubraune Niederschläge (s. Versuch 14); dagegen bleiben Serum und andere koagulierbares Eiweiß enthaltende Flüssigkeiten auf Zusatz von Chinosol klar. Dieses ist vielleicht der Grund dafür, daß es in tiefere Gewebsschichten leichter als Sublimat eindringt. Auf der Haut wirkt es nicht ätzend. Mit Stahl darf Chinosol nicht zusammengebracht werden, da es diesen angreift, ebenso entstehen mit Kalk Trübungen. Meines Wissens ist Chinosol, trocken aufbewahrt, unbegrenzt haltbar.

2. Wachstumshemmung bzw. Abtötung der Bakterien den praktischen Verhältnissen angepaßt.

Zunächst mag ein Brief an die Chinosolwerke im Auszug erwähnt werden:

Hamburg, 14. 6. 1898.

..... (Es) sind im Kaiserlichen Gesundheitsamte mit dem Chinosol Versuche vorgenommen; auch ist die Königliche Wissenschaftliche Deputation für das Medizinalwesen zu einer gutachtlichen Äußerung veranlaßt worden. Von beiden Seiten wurde bezüglich des Wertes des Chinosols in bakteriologischer und pharmakologischer Hinsicht anerkannt, daß das Antiseptikum in Anbetracht seiner Ungiftigkeit, sowie des Fehlens reizender Wirkungen ein beachtenswertes Desinfektionsmittel für den Gebrauch in Laienhänden darstellt, und daß es sich als Fiebermittel, ev. bei Malaria, sowie zur Desinfektion der Körperhöhlen, möglicherweise auch des Darmkanals, als brauchbar erweisen kann.

Der Königliche Gesandte:

i. A. gez. Heintze.

In folgender Tabelle ist eine Uebersicht über die von mir in der Literatur gefundenen Angaben über die entwicklungshemmende und keimtötende Wirkung des Chinosols enthalten.

Literaturübersicht über die Entwicklungshemmung bzw. Abtötung der Bakterien durch Chinosol.

Name	Zeitschrift	Jahr veröffentlicht	Ent- wicklungs- hemmend 1:	Ab- tötung 1:	Zeit der Einwirkung	Testbakterien	Bemerkungen
Emmerich		1895	40 000				
Hyg. Institut München		1895	40 000			Staphyloc. pyog. aureus	
Wm. Chatta- way, F. u. H. Pearmain, London		1896	10 000 10 000 30 000 25 000 15 000			Typhus Diphtherie Asiat. Cholera Staphyloc. pyog. aureus Streptococcus	
W. Patterson	Aerztliche Central- Zeitung No. 22	1908					Chinosol d. Kar- bolsäure weit überlegen, in manchen Fällen selbst dem Su- blimat
Charl. North	Allg. Med. Central- Zeitung No. 22	1908	100 000 20 000 300 000	1:500 1:1000 1:2000 1:200 1:500 1:500 1:1000 1:5000	1' 5' 90' 1' 5' 1' 5' 10'	Anthrax Typhus Staph. alb.	Bakterizide Wirk- kung stärker als in der Karbol- säure. Kommt der Wirkung des Sublimats näher als der von Kar- bolsäure. Durch den Alkaligehalt d. Nährbouillon wird die Des- infektionswirk- kung beeinflusst
Dr. Alf. Bed- dies und Dr. med. W. Ti- scher	Allg. med. Central- Zeitung W. 59—60	1896	30—50- mal stärker wie Kar- bolsäure	enorm		Typhus, Diphtherie, Cholera u. a.	
Enoch, Ham- burg		1896				Milzbrand	
Klein, St. Bar- tholomeus- Hospital London		1897 1907		1-proz. Lösung 1:150	5'	Anthrax-Bacill., Staph. aureus, Bacillus coli	Durch 5-proz. reines Phevol Staph. aureus in 5' abgetötet
Moor, London		1897		Lösung von 1:2000 1:3000	10' 60'	Bubonenpest	
Dr. Vogilius, Bakt. Labor. Universität Kopenhagen		1897	20 000 20 000 1 500			Bac. typhi Strept. pyog. Staphyloc. pyog. aureus	

Name	Zeitschrift	Jahr veröffentlicht	Ent- wicklungs- hemmung 1:	Ab- tötung 1:	Zeit der Einwirkung	Testbakterien	Bemerkungen
Paletschenko	Ref. Chemiker- Zeitung p. 180	1899		1:500 1:1000 1:1000 1:500 1:3000 1:1000 1:600 1:1000 1:4000 1:5000 1:4000 1:10000 1:10000 1:6000	15—20' 30' 90' 15' 14' momentan 15' 30' 15—16' 15' 30' 15'	Bacillus subtilis u. seine Sporen Ohne Sporen Milzbrandbac. Milzbrandsporen Typhus abdomi- nalis Rotz Staph. aur. Staph. albus. Vibrio Metschni- kow Cholera	Aus allen Ver- suchen geht hervor, daß das Chinosol als ein energisches Des- infektionsmittel anzusehen ist
Steenhuisen (Leiden)	Nederl. Tydschr. 134	1896	200 000			Staphyloc.	
Hill und Abram	British Med. Jour- nal R. 1946 p. 1012	1898		1:600	30'	Faeces	

Zusammenfassend ergibt sich aus der Literatur:

	Entwicklungs- hemmung in einer Ver- dünnung von	Es wurde abgetötet in Minuten						
		1	5	10	15	30	60	90
		in Verdünnung von						
Cholera	1:30 000	.	.	.	6000	10 000	.	.
Typhus	1:10 000—20 000	200	500	.	1000	.	.	3000
Vibrio Metschnikow	—	.	.	.	10 000	.	.	—
Coli	—	150
Diphtherie	1:10 000
Staphyloc. pyog. aur.	1:20 000—40 000	.	150	.	4000	.	.	.
	Bei Steenhuisen sogar bis 200 000
Staphyloc. pyog. alb.	—	500	1000	3000	4000	5000	.	.
Streptococcus	1:15 000—20 000	.	.	2000	.	.	3000	.
Bubonenpest	—
Milzbrand mit Sporen	1:40 000—50 000	.	.	.	500	.	.	.
Milzbrand ohne Sporen	—	.	.	.	1000	.	.	.
Subtilis mit Sporen	—	.	.	500
Subtilis ohne Sporen	—	1000	.	.
Rotz	—	1000	.	6000
Faeces	—	600	.	.
Anthrax	1:100 000	5000	1000	2000
			100

Wichtig ist ferner die Arbeit von Blühdorn: Veröff. d. Robert Koch-Stiftung, H. 3, Ref. H. R. 1913, H. 10, p. 584, der in bezug auf

Tuberkelbacillenabtötung durch Chinosol zu recht ungünstigen Ergebnissen kommt.

Auch mir scheinen die Angaben fast durchweg etwas zu günstig für Chinosol zu sein.

Eigene Versuche.

Zunächst habe ich einige Wachstumbehinderungsversuche angestellt, in erster Linie, um mich über die Wirkung des Chinosols im allgemeinen zu orientieren, dann aber, weil auch die Wachstumbehinderung für die Lymphe in Betracht kommt.

Das Wichtigste war selbstverständlich die keimtötende Kraft des Chinosols, denn hauptsächlich galt es die Keime, welche von den tieferen Hautteilen des Kalbes her in der Lymphe vorhanden oder später in sie hineingelangt sind, unschädlich zu machen.

Erfahrungsgemäß sind die Staphylokokken äußerst widerstandsfähig gegen Desinfektionsmittel; andererseits sind sie in die Epithelschicht tief eingebettet und so den Desinfektionsmitteln schwer zugänglich. Das geht aus allen Versuchen, die Lymphe keimfrei zu machen, mit Sicherheit hervor. Von diesen Gesichtspunkten aus habe ich die Untersuchungen angestellt.

Von den zahlreichen Orientierungsversuchen über die Desinfektionskraft des Chinosols unter Berücksichtigung seiner physikalischen und chemischen Eigenschaften auch im Verhältnis zum Sublimat und zur Karbolsäurelösung u. a. mögen hier nur einige angeführt werden. Die angewandte Technik ist bei den einzelnen Versuchen erwähnt, nur möchte ich allgemein hervorheben, daß ich meist zur Prüfung auf Sterilität auf mehrere Platten Ausstriche machte, um das Desinfektionsmittel hinreichend zu verdünnen, und daß ferner aus gleichem Grunde auch Bouillonkölbchen (mit 60 g Bouillon), wenn nötig mit Zwischenverdünnung, beimpft wurden, um dem Einwande zu begegnen, daß noch die in der Lymphe befindlichen Keime wegen Wachstumsbehinderung durch das Chinosol sich nicht entwickeln könnten. Die dann dabei entstehenden Chinosolverdünnungen betrugen 1- bis mehrmillionenfach (s. z. B. Versuch 11).

Versuch 1. (Wachstumsbehinderung.)

3,0 Bouillon, dazu Chinosolverdünnung, dann 1 Tropfen *Staphylococcus aureus*-Aufschwemmung (4 Oesen auf 1,0 Kochsalzlösung) im Brutschrank von 37° C.

Lfd. No.	Chinosol	Wachstum nach				
		Stunden	Tagen			
			7	1	2	4
1	1:1000	—	—	—	—	—
2	1:3000	—	—	—	—	—
3	1:10 000	—	—	—	—	—
4	1:30 000	—	—	—	—	—
5	1:100 000	—	—	—	+	±
6	1:300 000	—	±	±	++	++
7	1:1 000 000	—	±	+	+	+
8	1:3 000 000	±	±	+	+	+
	Kontrolle	+	+	+	+	+

Es bedeutet: — = kein Wachstum; + = Wachstum.

Versuch 2. (Wachstumsbehinderung.)

Chinosolverdünnung mit 8,5-prom. Kochsalzlösung, Blut und Serum, davon 1,0 zu 3,0 Bouillon; sonst s. Versuch 1.

Lfd. No.	Verdünnung des Chinosols	Chinosolverdünnung, hergestellt mit											
		8,5-proz. Kochsalzlösg.				Hammelblut				Hammelblutserum			
		Wachstum nach Tagen				Wachstum nach Tagen				Wachstum nach Tagen			
		1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8
1	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1:3000	—	—	—	—	—	—	±	+	—	—	—	—
3	1:10 000	—	—	—	—	±	±	+	+	—	—	±	±
4	1:30 000	—	—	—	—	+	+	+	+	±	+	+	+
5	1:100 000	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1:300 000	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:1 000 000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Kontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 3. (Wachstumsbehinderung.)

Versuchsbedingungen wie Versuch 1. Frisch bereitete Chinosollösung mit Kochsalzlösung (8,5-prom.).

Lfd. No.	Chinosolverdünnung	Typhus				Paratyphus A				Paratyphus B				Hoffmannsche Sporen				Diphtheriebacillen			
		7 Std.	Tagen			7 Std.	Tagen			7 Std.	Tagen			7 Std.	Tagen			7 Std.	Tagen		
			1	4	8		1	4	8		1	4	8		1	4	8		1	4	8
1	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
4	1:30 000	—	—	±	±	—	—	±	±	±	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+
5	1:100 000	±	±	+	+	±	±	+	+	+	+	+	+	—	—	±	±	—	—	±	±
6	1:300 000	±	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	±	±	—	—	±	+	+	+
7	1:1 000 000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Kontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 4. (Wachstumsbehinderung.)

Speichel mit Schleim 0,5 + 0,5 Chinosol 8,5-proz. Kochsalzlösung + 3,0 Bouillon; sonst wie Versuch 1.

Lfd. No.	Verdünnung des Chinosols	Wachstum nach				
		Stunden	Tagen			
			1	2	4	8
1	1:1000	—	—	—	—	—
2	1:3000	—	—	—	—	—
3	1:10 000	—	±	±	+	+
4	1:30 000	±	±	+	+	+
5	1:200 000	+	+	+	+	+
6	Kontrolle	+	+	+	+	+

Als Zusatz zum Zahnputz- und Mundspülwasser hat Chinosol mehrere Stunden lang ganz erhebliche Keimverminderung bewirkt. Sterilität ist natürlich unmöglich. (Sodazusatz ist zu vermeiden!)

Versuch 5. Abtötung.

1,0 Chinosolverdünnung + 1 Tropfen Staph. pyog. aur.-Aufschwemmung (Laboratoriumsstamm aus Eiter gezüchtet). An den verschiedenen Tagen Ausstrich auf Agar: Auftupfen von Flüssigkeit mit der Spitze der Platinnadel, nach etwa $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur austreichen, darauf in den Brutschrank von 37° C. Bei der stärkeren Lösung um den Tupfer herum kein Wachstum, jedoch etwa 1 cm von ihr entfernt.

Lfd. No.	Chinosol	Uebertragung auf Agar nach						
		Stunden			Tagen			
		$\frac{1}{2}$	1	4	1	2	4	8
1	1:1000	±	±	+	—	—	—	—
2	1:3000	+	±	±	+	—	—	—
3	1:10 000	+	+	+	±	±	±	—
4	1:30 000	+	+	+	+	+	+	+
5	1:100 000	+	+	+	+	+	+	+
6	Kontrolle	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 6. Abtötung.

Wie Versuch 5.

Lfd. No.	Chinosol-verdünnung	Typhus						Diphtherie						Aus der Lymphe frisch gezüchtete Staph. alb. und aur. (gemischt)					
		Stunden			Tagen			Stunden			Tagen			Stunden			Tagen		
		$\frac{1}{2}$	4	1	4	8		$\frac{1}{2}$	4	1	4	8		$\frac{1}{2}$	4	1	4	8	
1	1:1000	±	—	—	—	—		±	—	—	—	—		±	±	+	—	—	
2	1:3000	±	±	±	—	—		±	±	±	—	—		+	+	±	±	+	
3	1:10 000	+	+	+	±	—		+	±	±	—	—		+	+	+	+	+	
4	1:30 000	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	
5	Kontrolle	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	

Versuch 7. Abtötung.

Lymphe mit Glycerin (2:1) versetzt. Vor 14 Tagen vom Kalb genommen und sofort mit Chinosol versetzt (s. 1. Teil der Arbeit). Die Lymphe war noch nicht so fein verarbeitet und enthielt noch einzelne Flocken (vgl. Versuch 10).

Lymphe 2,0 + 1,0 Chinosollösung, außerdem 1 Tropfen von Staphyl. aur. und alb., die 2—3 Tage vorher aus anderer Lymphe gezüchtet waren. Auf Eis, überimpfen auf Agar wie in Versuch 5.

Die Zahlen bedeuten die Kolonienzahl der aus 1 vollen Oese Flüssigkeit (etwa 0,003) gewachsenen Kolonien.

Lfd. No.	Chinosol-Verdünnung	Mi-nuten	Ueberimpfung auf Agar nach																					
			Tagen																					
			60	1	2	4	6	8	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	1:100	∞	∞	∞	21	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1:300	∞	∞	∞	132	93	65	75	38	42	30	21	12	9	10	12	5	6	3	—	—	—	—	—
3	1:1000	∞	∞	∞	350	210	250	210	120	150	128	132	141	98	82	65	38	25	42	41	36			
4	Kontrolle	∞	∞	∞	410	480	410	350	370	320	310	280	210	250	190	200	180	170	185	165	140			

Versuch 8.

Wie Versuch 7, nur 8,5-proz. Kochsalzlösung statt Lymphe.

Lfd. No.	Chinosol-Verdünnung	Mi-nuten	Ueberimpfung auf Agar nach Tagen																					
			60	1	2	4	6	8	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	1:100	∞	∞	72	28	2	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1:300	∞	∞	110	86	55	65	31	8	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	1:1000	∞	∞	410	280	93	75	61	52	25	9	3	5	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Kontrolle	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	410	520	380	310	460	360	480	320	360	380		

Versuch 9.

Wie Versuch 7, statt Lymphe Glyzerin mit Kochsalz im Verhältnis 2:1 (wie in der Lymphe).

Lfd. No.	Chinosol-Verdünnung	Mi-nuten	Ueberimpfung auf Agar nach Tagen																					
			60	1	2	4	6	8	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	1:100	85	17	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1:300	210	75	16	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	1:1000	∞	∞	∞	∞	210	88	65	42	8	3	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Kontrolle	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	370	360	410	280	180	260	280	310	340	260	280	310	250			

Versuch 10.

Lymphe, vor 16 Tagen vom Kalb genommen und sofort mit Chinosol versetzt (s. 1. Teil der Veröffentlichung und Versuch 7).

Lfd. No.		Platten		Bouillon	Hoch-geschichtetes Agarröhrchen	Tierversuch	
		Agar (4)	Serum (4)			Maus (2)	Meersch. (1)
1	1:2000	vereinzelte Keime ¹⁾	—	getrübt ¹⁾	getrübt ¹⁾ , ohne Gasbild.	lebt	lebt
2	1:1000	steril	steril	steril	klar	„	„

1) Staphylococcus albus und aureus.

Versuch 11.

Lymphe vor 2 Tagen vom Kalb genommen und mit Chinosol versetzt. Die Lymphe war genau nach der in Abschnitt 1 dieser Arbeit gegebenen Vorschrift gewonnen und mit Chinosol versetzt. — Sie enthielt keinerlei mit bloßem Auge wahrnehmbare Flocken

Lfd. No.	Chinosol	Agar																60,0 Bouillon							
		1. Ausstrich								2. Ausstrich															
		Entnommen nach Tagen:																							
		1	2	4	8	10	12	14	16	1	2	4	8	10	12	14	16	1	4	8	10	12	14	16	
1	1:100	3	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—		
2	1:300	32	28	6	—	—	—	—	26	35	3	2	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—		
3	1:1000	65	82	45	10	8	1	—	40	65	51	8	6	4	—	—	+	+	+	+	+	+	+		

Die Unterschiede zwischen den Versuchen 7 und 11 zeigen die Wichtigkeit der sorgfältigen Bearbeitung der Lymphe nach dem Chinosol-zusatz.

7*

Versuch 12.
Blutkörperchenlösung mit Sublimat.

Lfd. No.	Sublimat-verdünnung	Hammelblut						
		5,0	3,0	1	0,3	0,1	0,03	0,01
1	1:100	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)
2	1:300	(-)	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)	(=)
3	1:1000	±	(-)	(-)	(-)	(=)	(=)	(=)
4	1:2000	+	+	(-)	(-)	(=)	(=)	(=)
5	1:3000	-	±	++	±	(-)	(-)	(=)
6	1:10 000	-	-	+	+	++	±	+
7	1:30 000	-	-	+	+	+	+	+
8	1:100 000	-	-	-	±	++	+	+
9	1:300 000	-	-	-	-	-	+	+
10	1:1 000 000	-	-	-	-	-	-	±
11	1:3 000 000	-	-	-	-	-	-	-
12	1:10 000 000	-	-	-	-	-	-	-
13	1:30 000 000	-	-	-	-	-	-	-

(=) = sofortiger Bodensatz } in destilliertem Wasser unlöslich.
 (-) = " }
 + = Lösung.
 - = Bodensatz in destilliertem Wasser löslich.

Versuch 13.
Blutkörperchenlösung durch Chinosol.

Lfd. No.	Chinosol-verdünnung	Hammelblut					
		5,0	3,0	1,0	0,3	0,1	0,03
1	1:20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	1:30	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	±
3	1:100	+	+	+	+	+	+
4	1:300	±	-	+	+	+	+
5	1:1000	-	-	-	-	+	+
6	1:3000	-	-	-	-	±	+
7	1:10 000	-	-	-	-	-	++
8	1:30 000	-	-	-	-	-	+

(-) = braunroter Niederschlag. + = Lösung. - = keine Lösung.

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgende Zusammenstellung:

		a) Wachstums- verhinderung nach 8 Tagen	b) Keimabtötung in Kochsalzlösung						
			Es wurden abgetötet in						
			Stunden			Tagen			
			1/2	1	4	1	2	4	8
Typhus	1 : 10—30 000			1 : 500	1 : 1000		1 : 3000	1 : 10 000	
Paratyphus A	1 : 10 000								
B	1 : 3000								
Diphtherie	1 : 10 000			1 : 1000	1 : 1000		1 : 10 000	1 : 10 000	
Erdbacillen	1 : 10 000								
Speichelkeime	1 : 3000			1 : 2000	Versuch in Anlage 1 nicht besonders aufgeführt				
Staph. aur.	1 : 10—30 000				1 : 3000	1 : 3000	1 : 10 000	1 : 10 000	
alb.									

Wie schon oben gesagt, wurden Vergleichsuntersuchungen mit Karbolsäure, besonders mit Sublimat, nicht mit angeführt, aber zahlreich angestellt. Es hat sich ergeben, daß Chinosol eine weit stärkere entwicklungshemmende Kraft wie Karbolsäure und eine etwa gleiche wie Sublimat besitzt.

Die Abtötungskraft stellt sich etwas ungünstiger; sie ist der Karbolsäure nur etwas überlegen und bleibt hinter Sublimat deutlich zurück. Obgleich es wie im Gegensatz zu Sublimat mit Serum (koagulierbares Eiweiß) keine unlöslichen Verbindungen gibt, wird es durch derartige Flüssigkeiten noch etwas mehr als Sublimat in seiner desinfizierenden Eigenschaft beeinträchtigt.

Aus dem Versuch 13 geht die weit geringere blutlösende Kraft des Chinosols als des Sublimats hervor. Diese geringe blutlösende Eigenschaft entspricht der geringen Giftigkeit für Menschen und Tiere:

3. Giftigkeit.

In der Literatur habe ich über Giftigkeit des Chinosols folgende Angaben gefunden.

Aus diesen an Tieren und Menschen angestellten Versuchen geht hervor, daß Chinosol relativ ungiftig für Menschen und Tiere ist. Der Gedanke liegt nahe, es zur Befreiung der Bacillenträger von ihren Keimen (z. B. Typhusbacillen) zu benutzen. Leider fehlt hier jede Gelegenheit, entsprechende Versuche anzustellen¹⁾.

Tierversuche.

Lfd. No.	Name	Zeitschrift	Veröffentlicht	Tierart und Gewicht	Injiziert				Bemerkungen
					intra-arteriell oder intra-venös	intra-peritoneal	subkutan	per os gegeben	
	Hyg. Institut d. Univ. München		1895	Kaninchen				8,5 g 3 Tage hintereinander	Kein Unwohlsein bemerkt
	Dr. Alfr. Beddis u. Dr. med. W. Fischer	Allgem. med. Zentral-Ztg. No. 59, 60	1896	Kaninchen 1200 g	0,6 g				Keinen merklichen Schaden
				Kaninchen 1260,0 g	0,1 g		0,3 g	4,0 g	
				Meerschweinchen 400 g		3,0 g			Unter klonischen Gliederkrämpfen gestorben

1) Wie ich während des Druckes dieser Arbeit erfahren habe, ist Chinosol tatsächlich mit Erfolg bei Typhus angewandt:

- | | | |
|----------|------|-----------------|
| 1. Woche | 0,1 | } täglich 3mal. |
| 2. „ | 0,25 | |
| 3. „ | 0,5 | |

Ferner wurde Chinosol zur Scharlachprophylaxe bei 300—400 Kindern durch Ausspülen der Nasenrachenhöhle mit großem Erfolg benutzt (Mitteilung von Prof. Kafemann, Königsberg).

Schließlich ist es als Zusatz zu Gurgelwasser 1:3000—1:300 zu empfehlen.

Menschenversuche.
(Als Tagesgabe 3,0—5,0 gegeben.)

Lfd. No.	Name	Zeitschrift	Veröffentlicht	Alter in Jahren (Erwachsene E., Kinder K.)	Injiziert				Bemerkungen
					intra-arteriell oder intra-venös	intra-peritoneal	subkutan	per os gegeben	
	Dr. Alfr. Be- doies und Dr. med. W. Fi- scher	Allgem. med. Zentral-Ztg. No. 59, 60	1896	E.				0,2 g 0,5 „ 0,75 „	Kein Unwohl- sein
				E.				1,0 g	Keine Gift- wirkungen. Chinosol relativ un- giftig
	Dr. med. Ecke- brecht-Abels- dorf (Schlesien)		1899				4—5 Ein- spritzun- gen. Lösung 1 : 1000 je 5,0 g		Bei Infektion mit Tetanus- bacillen schnelle Hei- lung
	Cipriani	Allgem. med. Zentral-Ztg. No. 75	1897				1 : 200 nicht mehr als 2mal 1,0 ccm täglich	1,0 g	

3. Gemeinsame Zusammenfassung.

- 1) Durch Zusatz von Chinosol läßt sich die Lymphe keimfrei machen, ohne daß ihre Wirksamkeit und Haltbarkeit darunter leidet.
- 2) Es handelt sich dabei um eine tatsächliche Abtötung der Keime.
- 3) Als brauchbarste Konzentration hat sich ein Zusatz von 3-prom. Chinosol bewährt. Ueber die Verwendbarkeit stärkerer Lösungen finden noch Prüfungen statt.
- 4) Durch die bisherigen Ergebnisse ist ein Hauptvorwurf der Impfgegner gegen die gesetzliche Impfpflicht hinfällig geworden, daß die Lymphe durch einen Gehalt an pathogenen Keimen den Impfling gefährde.



Nachdruck verboten.

Versuche zur elektiven Ausgestaltung des Dieudonnéschen Choleranährbodens.

[Aus dem Institut für experimentelle Pathologie der Universität Wien
und dem staatlichen Serotherapeutischen Institute
(Vorstand Hofrat R. Paltauf)].

Von

Dr. Gustav Hofer, und **Dr. Jaroslav Hovorka,**
Assistent k. k. Bezirksarzt in Wien.

Die Einführung des Blutalkalinährbodens nach Dieudonné hat die bakteriologische Choleradiagnose in außerordentlicher Weise gefördert. Als erster konnte Bürgers denselben in der ostpreussischen Epidemie im Jahre 1909 anwenden, und zwar mit besonderem Erfolge, wobei der genannte Autor den hemmenden Einfluß auf die normale Darmflora als ein auch für den geübten Untersucher besonders wertvolles Moment hervorhebt. Daneben reiht sich eine große Anzahl von Laboratoriumsversuchen an, welche die Wachstumsbegünstigung sowie die Elektivität des Nährbodens einem genaueren Studium unterzogen (Huntemüller, Laubenheimer, Schürmann, Abelin). Außer diesen Veröffentlichungen fehlte es nicht an Versuchen, Nachteile desselben resp. Uebelstände zu verbessern (Pilon, Neufeld Woithe, Händel, Esch, Hoffmann und Kutscher).

Die Untersuchungen über die (Ausschließlichkeit) Elektivität des Dieudonné-Agars brachten Schürmann und Abelin zu der Ansicht, das derselbe schlechtweg als für Cholera elektiv zu bezeichnen sei; hierin wurden die Autoren besonders bestärkt durch den Ausfall ihrer Versuche mit Choleravibrionen und Cholera-ähnlichen in Form von Gemischen, wobei der Nährboden als für die Cholera optimal befunden wurde. Von Seite einzelner Autoren, die den Nährboden hauptsächlich praktisch zur Anwendung brachten, lauteten die Urteile allerdings nicht so absolut günstig (Bürgers, Esch, Glaser und Hachla, Stokvis, Per-pola).

Untersuchungen, die wir unter Führung des Herrn Prof. Kraus auf dem bulgarischen Kriegsschauplatz unternommen haben, gaben uns Gelegenheit, den Dieudonnéschen Blutalkaliagar zur Choleradiagnose in großem Stile heranzuziehen, und berechtigen uns zu einem, auf praktischer Grundlage basierenden Urteile über dessen Vorzüge und Unvollkommenheiten.

Schon Laubenheimer hob in seiner Untersuchung den ungünstigen Einfluß des Dieudonnéschen Nährbodens auf Form und Färbbarkeit der Vibrionen hervor, was in der Folge allerdings von Bürgers bestritten wurde; ebenso wurden von letzterem die Laubenheimerschen Befunde von herabgesetzter resp. zerstörter Agglutinabilität der Choleravibrionen nach Entwickeln auf Blutalkaliagar bestritten. Was diesen letzten Punkt betrifft, so konnten wir wohl mit großer Wahrscheinlichkeit die Laubenheimersche Behauptung stützen. Wir fanden nämlich in vielen Fällen herabgesetzte Agglutinabilität der Blutalkalikultur gegenüber der nach 24 Stunden darauf vorgenommenen

Kontrollagglutination der Agarkultur (in einzelnen Fällen sogar völliges Ausbleiben der Agglutination), ein Verhalten, das daher mit sogenannter genuiner Inagglutinabilität des betreffenden Stammes nicht erklärt werden kann. Viel rückhaltsloser aber müssen wir Laubenheimer zustimmen in Beziehung auf seine Angaben über den verändernden Einfluß des Nährbodens auf Form und Färbbarkeit. Wir sind noch im Besitze von etwa 40 Originalpräparaten, angefertigt von der ersten Aussaat der Stühle auf den Dieudonné'schen Agar, die diese Verhältnisse erläutern. Die Abweichung der normalen Formen betreffen sehr häufig eine starke Dickenzunahme und ein nahezu vollständiges Verschwinden der Krümmungen. In einzelnen Fällen konnten wir lange, dicke Spirillenformen beobachten, die wohl als Involutionen zu taxieren sind; daneben prävalieren in einzelnen Präparaten mangelhafte oder auch ganz blaß gefärbte Individuen, die man auf 14–20-stündiger Agarkultur schlechthin nicht antrifft. Diese Umstände würden, besonders vermerkt, die Raschheit und Exaktheit der Choleradiagnose mit dem Dieudonné'schen Nährboden in keiner Weise beeinträchtigen, wenn die Ausschließlichkeit desselben für Cholera die Heranziehung der mikroskopischen Kontrolle unnötig machen würde. Wir konnten aber in Uebereinstimmung mit den Ausführungen von Huntmüller (*Pyocyaneus*), Glaser und Hachla (*Proteus*, *Faecalis alcaligenes*, *Fluorescens*), Bürgers etc. auch die Beobachtung machen, daß die Elektivität des Nährbodens eben doch nur bis zu einer gewissen Grenze geht und daß eine Reihe von Keimen mit größerer oder geringerer Regelmäßigkeit auf dem Dieudonné-Agar ihr Fortkommen findet. An erster Stelle stehen wohl die alkalibildenden *Faecalis*, *Proteus*, dann der *Pyocyaneus fluorescens*, sodann aber eine ganze Reihe von Keimen, wie wir sie im Laufe unserer Untersuchungen in Kirkkilisse isolieren konnten, darunter ein Stamm Stäbchen, Stämme großer und kleiner Kokken, Stämme vom Typus *Mesentericus*, sowie Kapselbacillen.

Die besprochenen Verhältnisse ließen es uns der Mühe wert erscheinen, an die elektivere Ausgestaltung des Blutalkaliagars nach Dieudonné heranzutreten, und vornehmlich erschien uns das von der Expedition mitgebrachte Material geeignet, um die Untersuchung in Angriff zu nehmen. Dieses bestand in 45 echten Cholerastämmen, mehreren nicht spezifischen Vibrionen, einer Reihe von Typhus, Coli, Dysenterie, Paratyphus, *B. faecalis alcaligenes*, *Proteus*, Kapselbacillen und Kokkenkulturen neben einem Stamm von nicht näher definierten Stäbchen.

An erster Stelle gaben wir durch das Steigern des Alkaligehaltes dem Nährboden eine veränderte Zusammensetzung. Durch diese Steigerung des Laugenzusatzes suchten wir einerseits eine absolute Vermehrung des Alkali herzustellen. Dies wäre durch Erhöhung der Laugenkonzentration möglich gewesen, wir setzten aber vielmehr steigende Mengen von Normalkalilauge dem Rinderblut zu, um neben der Erhöhung der Konzentration auch eine Blutverdünnung herbeizuführen. Die nachfolgende Tabelle zeigt das Verhalten von 10 Cholerastämmen, 6 nicht spezifischen Vibrionen und 10 verschiedenen Stämmen von Darmbakterien auf Platten, die von dem Gehalte Blut und Lauge in gleichen Mengen bis zum Verhältnisse Blut:Lauge = 1:8 hergestellt waren.

Die Technik der Plattenbereitung und Aussaat gestaltete sich folgendermaßen: Das Verhältnis von 70 Teilen von 3-proz. neutralem

Agar zu 30 Teilen zugesetzter Blutalkalimischung konnte vornehmlich bei den höheren Zusätzen von Lauge zum Blut nicht mehr aufrecht erhalten werden, da etwa von der Grenze Blut 50:Lauge 130—160 schon die Platten zu weich wurden, so zwar, daß wir das Verhältnis von 80 Teilen Agar zu 20 Teilen Blutalkali festsetzen mußten. In dieser Zusammensetzung ist der Nährboden, besonders nach mehrstündigem Verweilen im Brutkasten, wiewohl etwas weicher gegenüber dem Dieudonnéschen Original, dennoch zur Aussaat mit gekrümmtem Glaskapillar oder Spateln etc. vollkommen brauchbar. Der Ausstrich von Kultur wurde durch Auftragen entweder von Agarkulturmenge, oder nach Anreicherung in Pepton von dieser in 3 parallelen Strichen über die ganze Platte vorgenommen und jeweils nach 12—16 Stunden Bebrütung das Resultat vermerkt.

Aus der folgenden Zusammenstellung geht hervor, daß sämtliche Cholerastämme und einzelne nicht-spezifische Vibrionen bei der Grenze im Verhältnisse von Blut zur Lauge = 1:4 ohne merkliche Hemmung wuchsen, während die Mehrzahl der nicht-spezifischen Vibrionen und sämtliche Stämme von verschiedenen Darmbakterien, darunter Stämme von Kokken, Stäbchen [Georgieff (Bulgarien), Proteus, Verbanoff (bulgarisch)], Faecalis alcaligenes (3 Stämme) und Paratyphus B — auf dem Original Dieudonné wachsend — bei dieser Grenze keine Spur von Wachstum mehr aufwiesen. Einzelne Cholerastämme wuchsen auch noch bei dem Verhältnisse von Blut zur Kalilauge = 1:6 zum Unterschied aller nicht Cholerastämme; allerdings war die Intensität des Wachstums eine merklich reduzierte.

In der besprochenen Zusammensetzung des Nährbodens ließen sich nach unseren Versuchen alle nicht Vibrionenstämme in ihrem Wachstum ausschalten, und wir lenkten nunmehr in der Folge unsere Aufmerksamkeit speziell den Vibrionen zu, die wir durch verschiedene Zusätze zum Nährboden gegenüber den Choleravibrionen in ihrem Wachstum zu hemmen versuchten. Wir fügten abgestufte Mengen verschiedener Salze, darunter Ammoniumnitrat, Ammoniumcitrat, Kaliumjodid, sowie von Stärke dem Nährboden bei, ohne damit eine merkliche Einwirkung auf das Wachstum zu beobachten. Desgleichen blieb der Versuch, die Peptonmenge des Agars zu variieren, ohne Einfluß in dem gewünschten Sinne. Die genannten Experimente haben wir ohne jedwede etwa bekannte Grundlage rein empirisch vorgenommen; hingegen erschien uns das zu den folgenden Untersuchungen herangezogene Kristallviolett (B. Höchst) im vorhinein für unsere Zwecke aussichtsreicher. Wir hatten zunächst selbst gelegentlich unserer Untersuchungen in Kirkkilisse die Beobachtung gemacht, daß die Cholera besonders üppig auf dem Drigalski-Conradischen Lackmusmilchzuckeragar gedeiht, eine Tatsache, die wir nachträglich als schon von Hirsch im Jahre 1904 beobachtet nachweisen konnten. Das als bakterizid gekannte Kristallviolett mußte also wahrscheinlicherweise zumindest keinen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Choleravibrionen in bestimmter Konzentration haben. Versuche, Kristallviolett dem Original-Dieudonné-Nährboden zuzusetzen, bestätigten diese Auffassung einwandfrei, wie die folgende Tabelle erläutert (s. Tabelle II).

Die Zusammenstellung zeigt, daß Kristallviolettlösung (0,1 g auf 100 Aqua destillata) in Mengen von 0,1—2 ccm auf 10 ccm Original-Dieudonné zugesetzt, keinen hemmenden, vielmehr eher einen be-

Tabelle I.
Vergleich des Wachstums von echten Cholera-vibrionen, choleraähnlichen Vibrionen und anderen Bakterien auf originalem und modifiziertem Dieudonné-Agar.

Stämme	1 Blut: 50 Lauge: 50 (als Kontr.)	2 Blut: 50 Lauge: 100	3 Blut: 50 Lauge: 130	4 Blut: 50 Lauge: 160	5 Blut: 50 Lauge: 200	6 Blut: 50 Lauge: 250	7 Blut: 50 Lauge: 300	8 Blut: 50 Lauge: 400
1. Echte Cholera-vibrionen.								
1. „Corlu I“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	0	0
2. „Corlu II“ (bulg.)	++	++	++	++	++	0	0	0
3. „Corlu IX“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
4. „Prantschoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
5. „Anackoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
6. „T. Dimitroff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
7. „Mladen“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
8. „D. Athanasoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
9. „Koleff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
10. „Todoroff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	0
2. Choleraähnliche Vibrionen.								
1. „El Tor 10“	++	++	++	++	0	0	0	0
2. „El Tor 23“	++	++	++	++	0	0	0	0
3. Vibrio, leuchtend	++	++	++	++	++	++	0	0
4. Vibrio „6182“	++	++	++	++	++	0	0	0
5. Vibrio Ornstein (Berlin)	++	++	++	++	++	++	0	0
6. Vibrio „Nedoff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	0	0
3. Andere Stämme.								
1. „D. Marinoff“ (weiße Kokken, bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0
2. „St. Georgieff“ (Stäbchen, bulg.)	++	++	++	++	0	0	0	0
3. „Verbanoff“ (Proteus, bulg.)	++	++	++	++	++	0	0	0
4. „Ratscheff“ (Mesentericus, bulg.)	++	++	++	++	++	0	0	0
5. Faecalis alcaligenes (Inst.)	++	++	++	++	++	0	0	0
6. Coli (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0
7. Typhus (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0
8. Paratyphus B (Inst.)	++	++	++	++	0	0	0	0
9. Shiga-Kruze (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0
10. „M. Dimitroff“ (Kapselbac., bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung: ++ = starkes Wachstum; + = mittelstarkes Wachstum; 0 = schwaches Wachstum; 0 = Platten steril; fettes Linie = Grenzwert.

Tabelle II.
Vergleich des Wachstums von echten Choleravibrionen und anderen Bakterien auf originalem und modifiziertem Dieudonné-Agar.
(Kristallviolett B-Lösung [0,1:100,0 Aqua destillata] in Mengen von 0,1—2 ccm auf 10 ccm Original-Dieudonné zugesetzt.)

Stämme	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	Original-Dieudonné als Kontr.	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	0,6 ccm	0,7 ccm	0,8 ccm	0,9 ccm	1,00 ccm	1,50 ccm	2,00 ccm
1. Echte Choleravibrionen.													
1. „Prantschoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. „Čorlu II“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3. „Čorlu IX“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4. „T. Dimitroff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5. „N. Athanasoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6. „J. Stoianoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7. „N. Tzvetkoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8. „T. Dontscheff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9. „Vasileff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10. „D. Athanasoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. Andere Stämme.													
1. Nicht spezif. Vibrio „Nedoff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. „Verbanoff“ (Proteus, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3. „St. Georkieff“ (Stäbchen, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4. Faecalis alcaligenes (Inst.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Zeichenerklärung: ++ = starkes Wachstum; ++ = mittelstarkes Wachstum; + = schwaches Wachstum.

Tabelle III.
Vergleich des Wachstums von echten Choleravibrionen, choleraähnlichen Vibrionen und anderen Bakterien auf originalem und modifiziertem Dieudonné-Agar.
(Kristallviolett B-Lösung [1,0:100,0 Aqua destillata] in Mengen von 0,5–3,0 auf 10 ccm Original-Dieudonné zugesetzt.)

Stämme	1 Original- Dieudonné als Kontr.	2 0,5 ccm	3 0,6 ccm	4 0,7 ccm	5 0,8 ccm	6 0,9 ccm	7 1,00 ccm	8 2,00 ccm	9 3,00 ccm
1. Echte Choleravibrionen.									
1. „Prantschoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. „Cörlu IX“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3. „T. Dimitroff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4. „N. Athanasoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5. „D. Athanasoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. Choleraähnliche Vibrionen.									
1. „El Tor 10“	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2. „El Tor 28“	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3. Vibrio, leuchtend	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4. Vibrio „6182“	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5. Vibrio „Ornstein“ (Berlin)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6. Vibrio „Nedoff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7. Vibrio „Georkieff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8. Vibrio „J. Dicoff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9. Vibrio „Ch. Gantscheff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10. Vibrio „D. Marinoff“ (bulg.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3. Andere Stämme.									
1. „D. Marinoff“ (weiße Kokken, bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
2. „St. Georkieff“ (Stäbchen, bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
3. „Verbanoff“ (Proteus, bulg.)	++	+	+	+	+	+	+	+	+
4. „Katscheff“ (Mesentericus, bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
5. „M. Dimitroff“ (Kapselbac., bulg.)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
6. Proteus „Tyl“ (Inst.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7. Proteus „Schmid“ (Inst.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8. Faecalis alcaligenes „18–1913“ (Inst.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9. Faecalis alcaligenes „37–1912“ (Inst.)	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10. Typhus „Berger“ (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11. Paratyphus A (Inst.)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
12. Paratyphus B (Inst.)	++	+	0	0	0	0	0	0	0
13. Bac. enteritidis Gärtner (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14. Coli (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15. Shiga-Kruse (Inst.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung: +++ = starkes Wachstum; ++ = mittelstarkes Wachstum; + = schwaches Wachstum; 0 = Platten steril; fette Linie == Grenzwert.

Tabelle IV.

Vergleich des Wachstums von echten Choleravibrien, choleraähnlichen Vibrien und anderen Bakterien auf originale und auf von uns endgültig modifizierten Dieudonné-Agar (0,5–1,0 cem einer 0,1-proz. Kristallviolett B-Lösung auf je 10 cem eines modifizierten Dieudonné-Agar, Blut: Normalkalilauge = 1:4).

Stämme	1) Original Dieudonné als Kontrolle	2) Modifizierter Dieudonné Blut: 50, Lauge: 200	3) 2) + 0,5 cem 0,1-proz. Kristallviolett-Lösung
1. Echte Choleravibrien.			
1. „Prantschoff“ (Röhrchen, bulg.)	++	++	++
2. „Prantschoff“ (Platte, bulg.)	++	++	++
3. „Öorlu II“ (bulg.)	++	++	++
4. „Öorlu III“ ()	++	++	++
5. „Öorlu IV“ ()	++	++	++
6. „Öorlu IX“ ()	++	++	++
7. „Elbassan“ ()	++	++	++
8. „Baba Esji“ ()	++	++	++
9. „Ermeniköi-6“ ()	++	++	++
10. „Kadiköi-6“ ()	++	++	++
11. „Kadiköi-7“ ()	++	++	++
12. „N. Todoroff“ ()	++	++	++
13. „D. Welscheff“ ()	++	++	++
14. „J. Janeff“ ()	++	++	++
15. „J. Gotscheff“ ()	++	++	++
16. „K. Kostoff“ ()	++	++	++
17. „T. Dimitroff“ ()	++	++	++
18. „N. Athanasoff“ ()	++	++	++
19. „J. Stoianoff“ ()	++	++	++
20. „N. Tzvetkoff“ ()	++	++	++
21. „T. Donscheff“ ()	++	++	++
22. „D. Petcoff“ ()	++	++	++
23. „Vasileff“ ()	++	++	++
24. „D. Athanasoff“ ()	++	++	++
2. Choleraähnliche Vibrien.			
1. „El Tor 10“	++	0	0
2. „El Tor 28“	++	++	++
3. „Vibrio leuchtend“	++	++	++
4. „„Ornstein“ (Berlin)“	++	++	++
5. „„Nedoff“ (bulg.)“	++	++	++
6. „„St. Georkieff“ ()“	++	0	0
7. „„Ch. Gantscheff“ ()“	++	0	0
8. „„D. Marinoff“ ()“	++	0	0
9. „„J. Dicoff“ ()“	++	0	0
10. „„M. Dimitroff“ ()“	++	0	0
11. „„P. Petcoff“ ()“	++	0	0
12. „„D. Loubenoff“ ()“	++	0	0
13. „„V. Christoff“ ()“	++	0	0
14. „„W. Ratscheff“ ()“	++	0	0
3. Andere Stämme.			
1. „D. Marinoff“ (weiße Kokken, bulg.)	++	0	0
2. „St. Georkieff“ (Stäbchen, bulg.)	++	0	0
3. „Ratscheff“ (Mesentericus, bulg.)	++	0	0
4. „M. Dimitroff“ (Kapselbacillus, bulg.)	++	0	0
5. „Verbanoff“ (Proteus, bulg.)	++	0	0
6. „Faecalis alcaligenes (Inst.)“	++	0	0
7. Typhus ()	0	0	0
8. Paratyphus B. ()	++	0	0
9. Coli ()	0	0	0
10. Shiga-Kruse ()	0	0	0

Zeichenerklärung: ++ = starker Wachstum, ++ = mittelstarker Wachstum, + = schwacher Wachstum, 0 = Platte steril.

günstigenden Einfluß auf das Wachstum der Cholera ausübt, wogegen schon bei 0,5 ccm obigen Lösungszusatzes ein zur Kontrolle herangezogener nicht-spezifischer Vibrionenstamm [Nedoff (Bulgarien)] sowie ein bulgarischer *Proteus*, ein *B. faecalis* und ein bulgarischer Stamm [Stäbchen (Georgieff)] in der Wachstumsintensität merklich abfielen. Die nachfolgende Uebersicht (Tabelle III) zeigt das Verhalten von Choleravibrionen neben den verschiedensten Darmbakterien, die uns zu unseren Untersuchungen dienten, gegenüber hohen Dosen Kristallviolett-zusatzes (1 g auf 100 Aqua destillata) in Mengen von 0,5—3 ccm auf 10 ccm Original-Dieudonné zugesetzt.

Man ersieht, daß konform den oben erwähnten orientierenden Versuchen, wiewohl nicht mit einer absoluten Konstanz, eine Hemmung von einzelnen Vibrionen und aller anderen Stämme im Gegensatz zur Cholera hervorgerufen wird. Der Grenzwert des Kristallviolett-zusatzes, für welchen gar keine Hemmung für das Cholerawachstum bei Zusatz zum Dieudonnéschen Agar zu verzeichnen war, konnte im Mittel, resp. konform für alle Stämme, mit 0,8 einer 1-proz. Kristallviolett-lösung in der Menge von 0,8 ccm zu je 10 ccm Nährboden festgestellt werden.

Wir versuchten in der Folge, die Veränderung des Alkaliblutverhältnisses im Nährboden mit Zusätzen von Kristallviolett gleichzeitig vorzunehmen, und gelangten hierbei zu dem Resultat, daß Mengen von $\frac{1}{2}$ —1 ccm einer 0,1-proz. Kristallviolettlösung zu je 10 ccm eines modifizierten Original-Dieudonné-Agars (Blut: Normalkalilauge = 1:4) konform für alle Cholerastämme keine stärkere Hemmung des Wachstums zeitigen (s. Tabelle IV).

Die Tabelle zeigt ein gleichmäßig gutes Wachstum der Cholerastämme auf sämtlichen Platten, wogegen einzelne Vibrionenstämme vollständig gehemmt, deren zwei eine starke, wiewohl nicht vollständige Hemmung aufweisen. Alle anderen zur nochmaligen Kontrolle herangezogenen Darmbakterien, mit Einschluß der bei den Cholerauntersuchungen von Original-Dieudonné gewonnenen, zeigen vollständige Wachstumsheftung. Das gleiche Resultat veranschaulicht die Tabelle V, welche einen Versuch einzelner Stämme aller Klassen wiedergibt, die nach Anreicherung in Peptonwasser zur Aussaat verwendet wurden.

Die gewonnenen Resultate mit dem von uns modifizierten Dieudonnéschen Agar wurden nunmehr in der Weise überprüft, daß in 1-proz. Peptonlösung angereicherte Mischkulturen von Cholerastämmen (Prantschhoff, Bulgarien) mit *Faecalis alcaligenes*, *Proteus*, Georgieff (Stäbchen) zur Aussaat gelangten und die gewachsenen Kulturrasen mikroskopisch und agglutinatorisch mit Choleraserum auf ihre Identität untersucht wurden. Es konnte festgestellt werden, daß nur Cholera in üppigem Wachstum auf den Platten sich entfaltet hatte, während in der Peptonkultur jeweils beide gut angereichert waren und in der Aussaat auf dem Original-Dieudonné gleichmäßig zur Entwicklung gelangt waren.

Der von uns modifizierte Dieudonnésche Blutalkaliagar erweist sich gegenüber einer Reihe von nicht spezifischen Vibrionen und Darmbakterien bei Heranziehung der von Cholerauntersuchungen gewonnenen Reinkulturen als für Choleravibrionen besonders elektiv und

Tabelle V.

Vergleich des Wachstums einzelner Stämme aller Klassen, die nach Anreicherung in Peptonwasser zur Aussaat verwendet wurden, auf originale und modifiziertem Dieudonné-Agar.

Stämme	1) Original Dieudonné als Kontrolle	2) Modifizierter Dieudonné Blut : 50, Lauge : 200	3) 2) + 0,5 ccm 0,1-proz. Kristall- violett-lösung
1. Echte Choleravibrionen.			
1. „Prantschoff“ (Röhrchen, bulg.)	+++	+++	+++
2. „Prantschoff“ (Platte, bulg.)	+++	+++	+++
3. „Corlu IX“ (bulg.)	+++	+++	+++
4. „D. Athanasoff“ (bulg.)	+++	+++	+++
5. „N. Tzwetkoff“ („)	+++	+++	+++
2. Choleraähnliche Vibrionen.			
1. „El Tor 10“	+++	0	0
2. Vibrio „Nedoff“ (bulg.)	++	0	0
3. Andere Stämme.			
1. „Verbanoff“ (Proteus, bulg.)	+++	0	0
2. Faecalis alcaligenes „18—1913“ (Inst.)	+++	0	0
3. Coli (Inst.)	0	0	0

Zeichenerklärung: +++ = starker Wachstum, ++ = mittelstarker Wachstum, 0 = Platten steril.

erscheint aus diesem Grunde zur Verwendung in der Praxis empfehlenswert. Zur Herstellung desselben geben wir nachstehende Vorschrift an: Zu 3 Proz. neutralem Agar 80 ccm, fügen wir Rinderblut defibriniert 4 ccm, Normalkalilauge 16 ccm gekocht und zu je 10 ccm der Mischung von Agar und Blutalkali 0,5 ccm einer 0,1-proz. Kristallviolett-lösung in Aqua destillata. Die gegossenen Platten sollen zur Konsolidierung nach Möglichkeit 24 Stunden im Brutkasten etwas geöffnet und weitere 12 Stunden bei Zimmertemperatur geschlossen gehalten werden. Wir glauben die Vorschrift für die Anwendung besonders präzise geben zu müssen, da uns Versuche bei Anwendung von 4 Proz. Agar sowie abweichender Mengenverhältnisse von Agar und Blutalkali einerseits, sowie von Blut und Alkali andererseits, keine zuverlässigen, manchmal geradezu negative Resultate ergaben. Wir empfehlen den Nährboden zur praktischen Ueberprüfung und sehen mit größtem Interesse den künftigen Angaben über dessen Verwendbarkeit entgegen.

Literatur.

- Dieudonné, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50.
 Huntemüller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50.
 Laubenheimer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52.
 Hachla u. Holobut, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 52.
 Schürmann u. Abelin, Arb. a. d. Inst. f. Infektionskrankh. Bern. 1912. H. 7.
 Pilon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60.
 Dieudonné u. Bärthlein, Münchn. med. Wochenschr. 1912. No. 32.

- Bürgers, Hyg. Rundsch. 1910. No. 4.
 Haendel u. Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912.
 Perpola, Igiene med. 1911. No. 2.
 Esch, Deutsche med. Wochenschr. 1910.
 Glaser u. Hachla, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57.
 Stokvis, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1909.

Inhalt.

- Ascoli, Alberto**, Zum vorläufigen Bericht von Dr. Guido Finzi „Ueber die Spezifität und über den diagnostischen Wert der „Thermopräzipitinreaktion“ von Ascoli bei der Erkennung des hämatischen Karbunkels und des Rotlaufs“, p. 85.
- Baerthlein**, Ueber die Mutation bei Bakterien und die Technik zum Nachweis dieser Abspaltungsvorgänge, p. 1.
- Fischer, Adolf**, Nachuntersuchungen von Paratyphus-B-Bakterienträgerinnen, p. 13.
- Hofer, Gustav u. Hovorka, Jaroslav**, Versuche zur elektiven Ausgestaltung des Dieudonnéschen Choleranährbodens, p. 103.
- Ishiwara, K.**, Ueber die Meistagminreaktion beim experimentell erzeugten Sarkom (Ratten), p. 80.
- Kossel, H.**, Berichtigung zu Bertarelli „Der Rindertuberkulosebacillus in den tuberkulösen Veränderungen und die Beziehung der Rindertuberkulose zur menschlichen Tuberkulose“, p. 42.
- Moldovan, J.**, Beitrag zur Entwicklung des Leucocytozoon Ziemanni (Laveran), p. 66.
- Piras, L.**, Die Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Pest, p. 69.
- Saul, E.**, Beziehungen der Helminthen und Acari zur Geschwulstetiologie, p. 59.
- Schoettle, Fritz**, Weitere experimentelle Beiträge zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbacillen, p. 44.
- Seiffert u. Hüne**, Gewinnung keimfreier Lymphe durch Zusatz von Chinosol, p. 86.
- Wagner, Gerhard**, Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen, p. 25.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorhandensein einer den Körper einiger Bakterien umgebenden Hülle und deren besondere Bedeutung.

[Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie der Kgl. Universität Pisa
(Leiter: Prof. G. Guarnieri).]

Von Dr. Alberto Marrassini, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 2 Tafeln.

Die Autoren, die sich mit der Hülle und den Geißeln der Bakterien vom morphologischen und biologischen Standpunkt aus beschäftigt haben, sind ebenso zahlreich wie diejenigen, die Untersuchungen über die innerste Natur dieser Lebewesen angestellt haben.

Burger (1905) hat sein eigenes Verfahren, um die Kapsel der Bakterien nachzuweisen; er fand sie jedoch nur bei den bereits als gekapselt bekannten Bakterien (*Pneumococcus*, *Bac. aërogenes*, *Streptococcus capsulatus* etc.) in Form einer mehr oder weniger dicken Schicht, die zuweilen vom Bakterienkörper durch einen hellen, mehr oder weniger ausgedehnten Raum getrennt ist. Bei anderen Bakterien hat er beobachtet, daß diese laminaartige Schicht ein linienartiges Aussehen hat, niemals hat er jedoch weder beim *B. coli*, noch beim *M. catarrhalis*, beim *Gonococcus*, *Meningococcus*, beim *Diphtheriebacillus*, noch beim *Staphylococcus* usw. auch nur eine Spur von Kapsel vorzufinden vermocht.

Kayser (1906) ist es mittels Fixierung in Osmiumsäure und übermangansaurem Kalium gelungen, die Kapsel beim *Bacillus Friedländer*, beim *Diplococcus* und dem *Milzbrandbacillus*, aber nicht beim *B. coli*, dem *Typhusbacillus* und dem *B. pyocyaneus* zu färben.

Die Kapsel des *Milzbrandbacillus* ist von verschiedenen Forschern beobachtet worden, und zwar von Lenhard (1911) mit Kulturen in arsenhaltiger Fleischbrühe, von Kodama (1912) in stark alkalischen Flötenschnabelkulturen auf Agar, von Pane (1912) durch Belassen der mit dem Tierblut aufgenommenen Bacillen bei niedriger Temperatur, von Preisz (1909–1911) bei Entnahme der Keime aus den infizierten Tieren. Fischöder hat die Bildung besagter Kapsel reichlich in Kälbern, Tauben, Hühnern, Hunden usw., wenig aber nur im Serum von Kaninchen, Meerschweinchen, Schweinen und Pferden entstehen sehen. Preisz und teilweise auch Pane wollen sogar eine besondere Dicke der Kapsel und das ganz eigenartige Aussehen beobachtet haben, das Tönissen (1912) bei den dem Tierorganismus entnommenen Friedländerschen Bacillen festgestellt haben will.

Im Gegensatz zu den angeführten Autoren soll Boni (1900) bei Verdünnung des Kulturbelags in Formalin und Glycerin und darauffolgender Färbung in Ziehlscher Flüssigkeit der Nachweis des Bestehens einer Kapsel bei allen untersuchten Bakterien, und zwar sowohl bei den schon als gekapselt bekannten, wie auch bei den bisher nicht für solche gehaltenen Bakterien, wie *Sarcina flava* und *alba*, *B. coli*, dem *Typhusbacillus*, dem *Staphylococcus pyogenes aureus* usw. geglückt sein. Baher und Kantor glauben jedoch, daß das, was Boni gesehen hat, weiter nichts ist, als ein bei der Präparation zustande gekommenes Kunsterzeugnis.

Auch Nötzel (1906) ist es geglückt, die Kapsel außer beim *Milzbrandbacillus* auch bei den *Staphylokokken* und *Streptokokken* wahrzunehmen. Kühnemann (1911) beschreibt eine Kapsel auch beim *Typhusbacillus* in der Weise, wie sie Kuwabara (1909) beim *B. coli* schildert.

Bei allen diesen von den angeführten Autoren bekannt gegebenen Beobachtungen handelt es sich aber, wenn wir von den von Preisz und Pane beim *Milzbrandbacillus* und von den von Tönissen beim Friedländerschen *Bacillus* erhaltenen Ergebnissen absehen, nirgends um eine um den Bakterienkörper herumliegende Kapsel oder Hülle, die auch nur im entferntesten dem entspricht, was ich bei den von mir mit der nachstehend beschriebenen De Rossischen Färbung untersuchten Bakterien habe feststellen können.

Nur Babes (1895) gibt auf einer Tafel einige Abbildungen von Milzbrand- und Typhusbacillen, die er aus den nach der Bungeschen Methode gefärbten Präparaten erhalten hat; aus ihnen treten uns die Bakterienkörper mit einer weiten Substanzzone umgeben entgegen, aus der beim Typhusbacillus die Geißelhaare treten.

Diese Substanz, die den Bakterienkörper wie ein Mantel umgibt, und der man den Namen „Kapsel“ beilegt, ist nach Binaghi einem Anschwellen der äußeren Schicht der Bakterienmembran zuzuschreiben, das nach Ansicht dieses Autors im Organismus durch die biochemische Tätigkeit des Bakteriums selbst zustande kommt.

Migula (1896), der ebenfalls glaubt, daß die Kapsel aus Eiweißkörpern besteht und einer Erweichung der äußeren Schicht der Bakterienmembran zuzuschreiben ist, huldigt der Ansicht, daß die Kapsel sich bei allen Bakterien vorfinde, aber nur bei einigen eine bedeutende Dicke erreiche.

Eisenberg (1908—1911) hält die Bildung der Kapsel beim Milzbrandbacillus für eine einfache chemische Reaktion des Ektoplasmas der Bakterien in Berührung mit einer unbekannten, im Serum der Tiere enthaltenen Substanz, die wahrscheinlich ein Serumalbumin ist. Zu dieser Anschauung ist auch Migula gelangt; auch er meint, daß die Kapsel zumeist aus Eiweißkörpern bestehe. Boni dagegen schließt nicht aus, daß das, was man für eine Kapsel hält, das Protoplasma des Bakteriums sein könnte, dessen Kern der Bakterienkörper wäre.

Fürst (1910) glaubt wiederum, daß die Hülle keinen wesentlichen Teil des Bakteriums ausmache, wie die Kapsel, sondern einer sekundären Schichtung um die Zelle herum entspringe; nur der innere Teil dürfte dann für eine von dem Zellkörper abhängige Kapsel gehalten werden, da er vom Trypsin nicht angegriffen werde. Diese Albuminschichtung kommt nach dem Autor von dem Eiweißnährboden in den hypotonischen Mitteln her und findet nur bei den gekapselten Bakterien statt, denn er hat sie niemals bei den anderen, unter denselben Züchtungsbedingungen gelassenen, nicht-gekapselten Kokken und Bakterien beobachtet. Zwischen der Bildung der Hülle und der des Schleims besteht nach diesem Autor ein gewisser Parallelismus.

Nach Ansicht Hamms (1907) ist die Kapsel eine Nukleoalbumin-, aber keine Schleimstoffbildung, und es besteht nur ein quantitativer Unterschied zwischen den eigentlichen Kapseln und den Bakterienhüllen.

Marginesu (1912) hat die Bakterienhüllen nur in stark sauren Kulturen auf Serum und nur bei den gekapselten Bakterien entstehen sehen, und erklärt die Bildungsweise damit, daß er mit Fürst annimmt, daß die Säure des Serums das Eiweiß niederschlagen, das sich dann um die Kapsel des Bakteriums anschichte, oder aber, daß die Säuren auf die Bakterienzelle eine Reizwirkung ausüben, die dann auf diese Reizung mit Absonderung von Stoffen antwortet, die gerade die Hülle ausmachen und ein wirkliches Abwehrorgan gegen die Einwirkung dieser Säuren sind.

Hinterberger (1908) hat beim Milzbrand eine Hülle wahrgenommen, die er für das Ueberbleibsel einer schwachen Kapsel hält, deren am Körper hängen gebliebene Bruchstücke die Form von Geißeln annehmen.

Ottolenghi (1912) beschreibt den netzförmigen Bau der Kapsel des Milzbrandbacillus.

Zettnow (1897—1899) hat zuweilen um die Spirillen herum eine Hülle beobachtet, die sich wie die Geißeln färbt und zuweilen nur an den Polen vorhanden ist. Hülle und Geißeln entsprechen nach seiner Ansicht dem Plasma der Rindenschicht Bütschli, und haben ihnen zum Namen „Ektoplasma“ verholfen.

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen an Kokken, Bacillen und Spirillen gelangte Dobell (1911) zu dem Schlusse, daß die Bakterien kernhaltige Zellen sind, bei denen der Kern bald die Form des Keimes hat, zu dem er gehört, bald aber auch das Aussehen eines chromidialen Apparats, und daß bei der Teilung der Zelle jede Hälfte in die Tochterzelle übergeht.

Auch Douglas und Distaso (1912) und ebenso Feinberg (1900) konnten mittels der Giemsa'schen Färbung die Anwesenheit eines Kernes nicht nur in einem von ihnen bei einer Lungenerkrankung entnommenen Bakterium, sondern auch beim Diplococcus, bei der Diphtherie, beim Milzbrand, bei der Pseudodiphtherie und beim Typhus beschreiben. Nach den von den Autoren gegebenen Abbildungen hält der Kern einen großen Teil des Protoplasmas besetzt, das infolgedessen wie ein sich um den Kern herumziehendes Streifen aussieht.

Eine ähnliche Erscheinung wurde, wenn auch in anderer Form, von Trambusti und Galeotti schon lange vorher (1892) bei einem aus dem Trinkwasser isolierten Bacillus geschildert. Die Autoren konnten da sehr deutlich das Bestehen einer Protoplasmaschicht nachweisen, die auffallende Kernbildung zeigte, bei der auch die Wandlungen der Kernteilung verfolgt werden konnten.

Nakanishi (1901) dagegen spricht bei vielen Bakterien von einem kleinen, fast punktförmigen, in der Mitte gelegenen Kern, dann von einer Membran und einer

ziemlich weiten Zwischenzone, die das Protoplasma darstellt. So wie ihn der Verfasser beschreibt, unterscheidet sich der Kern ziemlich stark von dem, was nach Bütschli, Frenzel, Bunge u. A. den Hauptteil der Bakterienzelle mit der spärlichen Schicht Protoplasma ringsherum darstellen sollte; ebenso stark von dem von Trambusti und Galeotti geschilderten, und hat nichts gemein mit den Körnchen Fischers, der das Vorhandensein eines Kerns in den Bakterien in Abrede stellt. Dagegen kommt er schon eher auf die Babes-Ernstschen Körnchen hinaus, denen Marx und Woithe den Wert des Keimplasmas beilegen, sowie auf das oder die von Schottelius beschriebenen Körperchen (1888). Dieser Kern stimmt nach Verfasser teilweise auch mit den Befunden Růžickas überein und hat eine außerordentliche Aehnlichkeit mit dem von Wagner (1898) beim Typhus- und Coli-Bacillus beschriebenen.

Fürst (1910), dem niemals eine Loslösung der Hülle vor Augen gekommen ist, hält die Kohäsion zwischen Hülle und Zelle für sehr stark. Er meint dann, daß die Hülle selbst mehr noch als die Kapsel der Phagocytose gegenüber ein rein mechanisches Hindernis bedeute. Diesen Gedanken bringt auch Bordet (1909) zum Ausdruck, der wahrnehmen konnte, daß die stark abgeschwächten Bakterien sich dadurch unterscheiden, daß sie nicht in der Lage sind, Kapseln zu bilden. Auf seiner Seite stehen auch Eisenberg, Sawtschenko, Gruber, Futaki u. A.

Rosenow (1911) dagegen hält die Kapsel für einen zur Virulentmachung der Pneumokokken nicht absolut notwendigen Faktor und schlägt ein Verfahren vor, mit dem es ihm gelingen soll, die Kapsel auch bei den Staphylokokken zu färben. Hieraus gelangt er dann zum Schlusse, daß die Schwierigkeit der Färbung der Kapseln nicht an die Schwierigkeit ihrer Erhaltung gebunden ist, da sie nicht so leicht im Wasser löslich sind, wie dies viele Verfasser behaupten.

Was dann die Bedeutung der Geißeln anbelangt, so wird heute angenommen, daß sie zur Weiterbewegung der Bakterien dienen. Van Tieghem (1879) spricht ihnen jede Bedeutung ab, und behauptet, daß sie weiter nichts sind, als die Folgen der Zerreißung der Membran, die während des Teilungsprozesses eintritt.

Auch Bütschli hält sie ausschließlich für Ausläufer der Bakterienmembran, auch schon deshalb, weil, wenn die Bakterien zwischen dem Deckglas und dem Objektträgerglas zerdrückt werden, man unter Beibehaltung der Membran und der daran haftenden Geißel den Austritt des Bakterieninhalts erreichen kann. Fischer, De Rossi, Meyer und andere Forscher sind dagegen der Ansicht, daß die Geißeln wirklich vom Bakterienplasma abhängen; Fischer will sogar gesehen haben, daß sie durch besondere, in der Membran enthaltene Oeffnungen hindurchtreten.

Näheres über die Struktur der Bakterien kann man in der Arbeit von A. Meyer (1912) finden.

Den Geißeln und Kapseln ist bei der Agglutination eine große Bedeutung beigemessen worden.

Chyosa (1910) und Tsujitani sind der Meinung, daß die agglutinierbare Substanz in der äußeren Schicht der Bakterien und in den Geißeln vorhanden ist. Kühnemann (1910) nimmt an, daß das spezifische Serum auch in starker Verdünnung, und das Normalserum in schwächerer Verdünnung, auf die Bestandteile der Geißeln eine tricholytische Wirkung ausübt, die Hand in Hand geht mit der Agglutinationserscheinung, ohne mit derselben aber absolut in Zusammenhang stehen zu müssen.

De Rossi beobachtete im Jahre 1904, daß die Geißeln allein, die ganzen Bakterien, wie auch die der Geißeln beraubten Bakterien sich qualitativ in gleicher Weise verhalten, quantitativ jedoch außerordentlich verschieden, besonders was das Vermögen, die Agglutinine zu binden, anbelangt. Gerade diese Fähigkeit war in den der Geißeln beraubten Bacillenkörpern äußerst spärlich entwickelt, dagegen ganz besonders stark hervortretend in den isolierten Geißeln, in denen es fast dieselbe Stärke aufwies, wie in den ihrer Bewegungsorgane nicht beraubten Bacillen. Bemerkenswert ist das Ergebnis der Untersuchungen Procas (1912), dem es gelungen sein soll, die Geißeln des Typhusbacillus, der Cholera vibriionen, des Paratyphus A und B nach Behandlung mit spezifischem Immunsrum im Ultramikroskop sichtbar werden zu lassen.

Beham (1912) behauptet seinerseits, daß die entkapselten Bakterien sich nur im kapsellosen Zustand agglutinieren, im Gegensatz zu Defalle (1903), nach dem den Kapseln beim Agglutinationsvorgang eine sehr große Bedeutung beizumessen ist.

In einer früheren Arbeit, in der ich über den von einem aus Lybien zurückgekehrten Soldaten herrührenden, typhogenen Bacillus berichtete, habe ich darauf aufmerksam gemacht, daß die Färbung der Geißeln nach dem De Rossischen Verfahren rings um den Bakterienkörper herum eine ganz eigentümliche Hülle zutage gefördert hat, mit dem die fadenförmigen, gewellten Ausläufer, die als zur Fortbewegung bestimmte

8*

Flimmerhaare ausgelegt werden, in inniger Verbindung standen. Sowohl die Geißeln, wie auch die Hülle nahmen unter sich dieselbe Farbe an, während der in der Mitte gelegene Bakterienkörper eine an Ton und Stärke ganz verschiedene Farbe aufwies.

Da ich nicht über genügende Angaben verfügte (die übrigens beim Studium dieser kleinsten Lebewesen schwer zu erhalten sind), um mich für die eine oder andere der zur Deutung eines solchen Befundes erhobenen Vermutungen entscheiden zu können, entschloß ich mich, Nachforschungen darüber anzustellen, ob eine solche Erscheinung auch bei anderen Bakterien auftritt. Die dabei erhaltenen, nachstehend beschriebenen Ergebnisse scheinen unsere vollste Aufmerksamkeit zu verdienen.

Die Bakterien, die ich bis jetzt untersucht habe, sind: Mehrere Stämme des Typhusbacillus, der Choleravibrionen, des Staphylococcus pyogenes aureus, des Milzbrandbacillus und des Bac. subtilis. Mehrere dieser Bakterienstämme verdanke ich der Freundlichkeit der Herren Prof. Sclavo und Belfanti, denen ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage.

1) Typhusbacillus. Die verschiedenen Kulturen des Typhus N. (der von dem aus Lybien zurückgekehrten Soldaten herrührt), denen ich das Material zur Färbung der Geißeln nach der De Rossischen Methode entnommen hatte, haben mich zu etwas verschiedenen Ergebnissen geführt. Die einzelnen Bakterien haben zuerst das von mir schon in der früheren Arbeit beschriebene Aussehen angenommen; sie wiesen nämlich einen mehr oder weniger länglichen, mittleren, sich stark rot färbenden Teil auf, den wir der Einfachheit wegen Bakterienkörper nennen und weil er ungefähr der Form und der Ausdehnung des nach einer einfachen Färbung beobachteten Keims entspricht; dann eine Hülle, die bald wie ein blasser, um den mittleren Teil sich herumziehender Hof aussieht, bald zwei verschiedene Zonen wahrnehmen läßt, eine innere (mit dem am stärksten gefärbten Teil in Berührung stehende), äußerst blasse, zuweilen fast farblose Zone, und eine äußere, stärker als die vorstehende, aber nicht so stark wie der mittlere Teil gefärbte Zone.

Der Bakterienkörper besteht in vielen Fällen ganz deutlich aus einer mittleren, stärker gefärbten Zone und einem ziemlich klar hervortretenden, aber schwächer gefärbten Rändchen.

Die Hülle, die immer eine blässere Färbung aufweist als der Bakterienkörper, besitzt fadenförmige, gewellte, ziemlich dicke, aber spärliche und kurze Ausläufer, die sich an ihren äußersten Teil anschließen und im Farbenton ganz genau mit ihm übereinstimmen. Dieser Farbenton ist nicht nur blasser als der des Bakterienkörpers, sondern unterscheidet sich von diesem auch dadurch, daß er anstatt rein rot zu sein, etwas ins Violette schießt, als ob es sich um eine Verfärbung handelte.

Die von späteren Uebertragungen auf geeignete künstliche Nährböden herrührenden Elemente sahen ganz verschieden aus. Auch bei diesen hatte der mittlere Teil das vorher beschriebene Aussehen, d. h. die Größe und die Form, die bei den Bakterien nach Färbung mit der einfachen Wasseralkohollösung einer basischen Anilinfarbe erhalten wird. Es war jedoch dieser mittlere Teil von einer zweiten Zone umgeben, die fast homogen und viel blasser gefärbt war, als der zentrale Teil und einen Stich ins Violette zeigte. Diese Zone ist deutlich abgegrenzt, bald rundlich, bald oval, bald etwas unregelmäßig und von verschiedener Größe. Bald ist nämlich ihr Durchmesser ebenso groß oder wenig größer

als der Höchstdurchmesser des Bakterienkörpers, bald übertrifft er ihn ums Doppelte und Dreifache und selbst um noch mehr. Besagte Zone enthält meist einen einzigen Bakterienkörper, der deutlich in der Mitte liegt, zuweilen aber auch in verschiedener Weise exzentrisch. Nicht ausgeschlossen sind Fälle, in denen die Zone auch mehr als einen der stäbchenförmigen, stark rot gefärbten Körper enthält, die dann auf ganz verschiedene Weise gelagert sind (Taf. I. Fig. 5—9; Taf. II. Fig. 6—8, 13—15).

Einige Male kann um den Bacillenkörper herum auch eine kleine, farblose Zone beobachtet werden, um die sich dann die andere vorher beschriebene herumlegt. Aus dem Rande dieser letzteren treten die fadenförmigen, gewellten Ausläufer hervor, die sich da in verschiedener, aber immer spärlicher Anzahl vorfinden, entsprechend kurz sind und denselben Farbenton aufweisen wie die schwachgefärbte Zone, von der sie herzurühren scheinen (Taf. I Fig. 3 usw.). Andere Male lassen sich dagegen Bacillenkörper mit der Hülle wahrnehmen, die das eine oder andere vorher beschriebene Aussehen hat, aber ohne Geißeln (Taf. I. Fig. 10), die losgetrennt sind und zerstreut im Gesichtsfelde des Mikroskops liegen.

Fast alle Elemente sehen so aus; nur hier und da hat man Gelegenheit, einige stark gefärbte, stäbchenförmige Körperchen in anscheinend nacktem Zustande vorzufinden. In diesem Falle scheinen die Geißeln unmittelbar vom Bakterienkörper auszugehen, immerhin aber läßt sich der bei der Färbung erhaltene Farbenton deutlich als ihr eigener erkennen, der verschieden ist von dem des Bakterienkörpers (Taf. II. Fig. 1).

In anderen Präparaten weisen einige Elemente einen der vorher beschriebenen Anblicke auf, andere dagegen ein etwas abweichendes Aussehen. Anstatt nämlich um den stäbchenförmigen, stark gefärbten Körper herum die blassere Zone zu erblicken, sieht man diese zuweilen ganz und gar farblos, von einem dünnen Saum begrenzt, aus dem die fadenförmigen Ausläufer hervortreten (Taf. I. Fig. 1, 2, 4; Taf. II. Fig. 2, 3). Zuweilen erscheint auch die blaß gefärbte Substanz nicht mehr innerhalb des Saumes, sondern ganz oder teilweise außerhalb desselben, wie wenn eine peribakterische Blase gebrochen wäre, in der sie vorher enthalten war (Taf. I, Fig. 11, 12; Taf. II. Fig. 4, 5, 9—12, 16). Neben den stäbchenförmigen, von einer farblosen Zone umgebenen und von einem dünnen Saum begrenzten Körpern finden sich auch andere, bei denen der nach außen deutlich abgegrenzte Saum dem Innern zu stufenweise und unregelmäßig dicker ist, resp. die farblose Zone beschränkter. Auf diese Weise kommen wir zu den vorher beschriebenen Körpern, bei denen die farblose Zone gar nicht zutage tritt. Auch da fehlt es nicht an Elementen, bei denen die Hülle nicht zum Vorschein kommt und die Geißeln direkt vom Bakterienkörper auszugehen scheinen; aber auch in diesen Fällen weisen die Geißeln einen ihnen eigenen Farbenton auf.

Wenn zwischen dem Bakterienkörper und dem äußeren, gefärbten Teil der Hülle der helle Zwischenraum besteht, erblickt man denselben nirgends von irgend etwas durchzogen, was eine Fortsetzung der Geißeln bedeuten könnte, die auf der Höhe der äußeren Grenze der Hülle anhalten und sich in ihr verlieren.

Die an anderen, aus Kranken unserer Gegenden isolierten Typhusbacillenstämmen vorgenommenen Untersuchungen haben zu demselben Ergebnis geführt, nur waren die erschienenen Geißeln bedeutend länger und zahlreicher.

2) *Cholera vibrio*. Der nach der De Rossischen Methode behandelte *Cholera vibrio* zeigt ein ähnliches Aussehen, wie das beim *Typhus bacillus* festgestellte, jedoch mit einem Unterschied in der Ausdehnung der Hülle, die da kleiner ist, sowie in der Zahl und Länge der Geißeln. Denn bei dem *Cholera vibrio* haben wir eine einzige, kürzere Geißel, wenn eine solche überhaupt vorhanden ist. Der leicht angeschwollene Bakterienkörper hat die typische Komma-, oder eine leicht spirillenartige Form und ist von einer Hülle umgeben, die zuweilen kaum sichtbar, zuweilen aber auch weiter und typisch gefärbt (Taf. I. Fig. 14 bis 16; Taf. II. Fig. 17, 18), nicht selten auch vollständig farblos und von einem dünnen Saum begrenzt ist (Taf. I. Fig. 13; Taf. II. Fig. 19, 20). Hin und wieder sind auch zwei oder mehr Bakterienkörper von einer gemeinsamen Hülle umgeben. Die Geißel tritt da, wo sie sichtbar ist, immer aus dem Rande der Hülle oder dem dünnen Saum hervor, und zwar an einer Stelle, die immer ungefähr einem der Pole des Bakterienkörpers entspricht. Bei den wenigen Elementen, ohne erkennbare Hülle, scheint die Geißel direkt von einem der Pole auszugehen; sie unterscheidet sich aber von der ersteren ganz unverkennlich nicht nur durch ihre Form, sondern auch durch den ihr eigenen Farbenton, der genau derselbe ist, wie der bei der *Typhus bacillengeißel* beschriebene.

Auch bei der Prüfung dieser Präparate sieht man im Gesichtsfeld des Mikroskops zerstreut kleine Massen einer Substanz, die ebenso gefärbt ist wie jene, aus der die Bakterienhülle besteht. Wie bei den Präparaten des *Typhus bacillus*, bekommt man auch hier verschiedene Bilder zu sehen, die an die Möglichkeit eines Heraustretens der Substanz aus der Bakterienhülle denken lassen. Zuweilen kommt einem auch nur die Hülle oder der Saum zu Gesicht, worin die Geißel steckt, und in der Mitte ein hohler Raum, aus dem wahrscheinlich während der Präparation der Bakterienkörper herausgetreten ist (Taf. II, Fig. 21).

3) *Milzbrand bacillus*. Einige Bacillen sind nackt, andere besitzen eine mehrere Mikromillimeter messende Hülle, die eine mehr oder weniger blasse, ins Violette stehende Farbe, nicht immer sehr deutliche, sondern leicht verschwommene Umrisse aufweist und vielfach vom Bacillenkörper durch einen ziemlich dünnen, hellen Raum getrennt ist. Häufig umgibt auch eine gemeinsame Hülle verschiedene kettenartig angeordnete Stäbchen (Taf. I. Fig. 17—19).

Der leicht angeschwollene, stark rot gefärbte Bakterienkörper läßt eine innere, ziemlich dicke und durch ihre stärker hervortretende Färbung wohl unterscheidbare Achse wahrnehmen, sodann eine sie umgebende, nicht weite, etwas blässere Zone und schließlich eine dünne, ungefähr so stark wie der Zentralteil gefärbte Grenzzone. Diese Struktur des Bacillenkörpers, die in allen Einzelheiten ziemlich deutlich hervortritt, ist in den kürzeren Stäbchen bedeutend besser ausgeprägt (Taf. II. Fig. 22, 23). Einige der Hüllen, die den Bacillenkörper verloren haben, weisen im Innern einen entsprechenden farblosen Raum auf und sehen fast wie ebenso viele leere Rahmen aus (Taf. I. Fig. 22; Taf. II. Fig. 25). Die Hüllen einiger Bakterienkörper nehmen nicht die oben beschriebene Färbung an, sondern sind im Grunde farblos und lassen ein verschiedenartiges Bälkchengefüge wahrnehmen, das die Hüllen fast vollständig durchsetzt und sozusagen schwammartig aussieht (Taf. I. Fig. 20; Taf. II. Fig. 24).

4) *Staphylococcus pyogenes aureus*. Um die einzelnen isolierten oder gruppenweise angeordneten, stark rot gefärbten Bakterien-

körper herum liegt eine blässere, ins Violette stechende Zone, die zu-
meist wenige Mikromillimeter dick ist, zuweilen aber auch größere Aus-
dehnung erreicht. Es bietet sich uns da ein Anblick, der an das erinnert,
was bei den anderen Keimen beschrieben wurde, wenn die Geißeln fehlen;
nur erreicht die Hülle hier niemals die Ausdehnung, die in vielen der
genannten Keime beobachtet worden ist (Taf. I, Fig. 23; Taf. II, Fig. 26).

5) *Bacillus subtilis*. Der Bacillenkörper, dessen vollständige,
von anderen Verfassern beschriebene Struktur bei starker Vergrößerung
erkannt werden kann, nimmt bei der Färbung ein starkes Rot an und
ist von einer verschieden dicken Hülle umgeben, welche die auch bei
der Hülle der anderen Bakterien beschriebene Farbtönung aufweist. Die
Hülle erscheint zuweilen von dem Bakterienkörper durch einen hellen
Raum von verschiedener Größe getrennt, von ihrem Rande gehen äußerst
zahlreiche Geißeln aus. Auch bei diesen Keimen zeigt der Hülle-Geißel-
apparat eine ganz besondere Färbung, derzufolge er sich ganz deutlich
vom Bakterienkörper unterscheidet. Auch in diesem Falle können wir
infolge des Austritts des Bacillenkörpers während der Untersuchung auf
das vorher beschriebene Bild des leeren Rahmens stoßen. Andere Male
umfängt ein und derselbe Hülle-Geißelapparat mehrere Bakterienkörper,
die bald kettenweise angeordnet sind, bald an ihrer seitlichen Oberfläche
zusammenhängen (Taf. I, Fig. 25—28; Taf. II, Fig. 28—30).

Sehr schwer fällt es natürlich, nun über die innerste Natur und die
Bedeutung der Bakterienkapseln und -hüllen etwas Genaues sagen zu
wollen. Dazu sind noch viele Nachforschungen nötig, denn auch die
bisher angestellten sind leider zum großen Teil allzu unzuverlässig, als
daß man auf ihrer Grundlage einwandsfreie Schlüsse zu ziehen vermöchte.

Die an größeren Keimen vorgenommenen Untersuchungen können
ja nun freilich zu deutlicheren Ergebnissen führen, doch können eben
diese andererseits wieder nicht ohne weiteres auf die kleineren Bakterien
und auf alle Bakterien im allgemeinen angewandt werden, bei denen es
nicht für ausgeschlossen gelten kann, daß derselbe Vorgang auf eine
grundverschiedene Art und Weise sich abzuwickeln vermag.

Um nun eine Benennung zu vermeiden, deren Wert heute zu sehr
schon bis ins Einzelne bekannt ist, habe ich von dem Worte „Kapsel“
zur Benennung des von mir beim Studium von Bakterienkörpern an-
getroffenen und diese umgebenden Gebildes Abstand genommen und den
allgemeineren Ausdruck „Hülle“ gewählt, der wohl bestehen kann, bis die
weiteren Nachforschungen Endgültiges über ihr innerstes Wesen gebracht
haben. Dies um so mehr, als es durchaus nicht gesagt ist, daß viele
Verfasser sich darüber klar geworden sind, was wirklich unter einer
eigentlichen und wahren Kapsel verstanden werden soll. Es ist gar nicht
ausgeschlossen, daß z. B. das, was für einige die perinukleäre Proto-
plasmasschicht und somit einen wesentlichen Bestandteil der Bakterien-
zelle bedeutet, für andere nichts weiter ist, als das Kapselgebilde, also
ein ganz und gar nebensächlicher Teil. Zu dieser Unterscheidung liefern
auch die besonderen Färbeverfahren keine genügende Grundlage, wenn
wir bedenken, daß im allgemeinen ein jedes desselben sich besser dazu
eignet, die Hülle bei einigen Arten mehr als bei anderen zu färben, und
daß dann diese Hülle bei gewissen Bakterien die Farbe außerordentlich
leicht annimmt, bei anderen Bakterien dagegen nur eine außerordentlich
feine Technik und außerordentlich verwickelte Erfahrungen zu demselben
Ziele führen.

Der von mir das erste Mal beim Typhusbacillus erhaltene Befund und der erst kürzlich beim Studium anderer Keime erhaltene stellen uns vor eine nicht kleine Reihe zu lösender Fragen.

Die Klarheit der Präparate läßt ein in derartigen Untersuchungen erfahrenes Auge ohne weiteres ausschließen, daß es sich da um ein Präparationskunsterzeugnis, oder um einen zufälligen Befund handelt. Der auf dem Agar erhaltene Kulturbelag ist in einem, in eine gut gereinigte Uherschale verbrachten Tropfen destillierten Wassers aufgelöst und von da das Material mit Hilfe einer Platinöse auf das Deckglas überbracht worden, welches letzteres vorher auf eine Weise zubereitet wurde, die seine absolute Reinigung verbürgen konnte. Uebrigens hat der Farbenniederschlag, wenn das Präparat nicht gut ausfällt, niemals das Aussehen, das wir um die Bakterienkörper herum wahrnehmen konnten, sondern erscheint in Form von feinen Körnungen, die zuweilen auch größere Körner enthalten können, wie solche von De Rossi beschrieben worden und auch auf den ersten Blick erkennbar sind.

Die von mir beobachtete Hülle besitzt dagegen eine homogene, gleichmäßige Färbung, welche der der Geißeln ähnelt, die direkt von der ersteren abzustammen scheinen. Die besagte Farbe findet sich um den Bacillenkörper herum nicht in Form einer unregelmäßigen Ansammlung, sondern deutlich abgegrenzt. Sind dann die Umrisse nicht deutlich, so erscheint um den Bakterienkörper herum ein von einem Saum begrenzter, farbloser Raum, während der Farbstoff sich darum herumlagert, gerade wie wenn er zum Saum hinausgetreten wäre. Neben diesen Bildern bekommt man natürlich auch andere zu sehen, auf denen die verschiedenen Momente der Entfernung der Substanz vom Bakterienkörper hervortreten.

Auch darf nicht vergessen werden, daß Babes beim Milzbrand und Typhus nach Anwendung der Bunge'schen Färbungsmethode etwas Aehnliches zu schildern vermochte.

Außerdem scheint mir aber auch noch ein anderer Umstand von ganz besonderer Bedeutung zu sein. Es hat nämlich die Züchtung der einzelnen Bakterien, die Herrichtung der Platten und die darauffolgende Färbung immer auf dieselbe Weise stattgefunden. Unter solchen Verhältnissen ist es leicht begreiflich, daß, wenn das Erscheinen der beschriebenen Hüllen nur eine Zufälligkeit darstellte, die mit dem Färbungsverfahren oder mit von der Natur des Keims unabhängigen Verhältnissen im Zusammenhang steht, es in allen Fällen zu denselben Vorgängen führen und dieselbe Schwierigkeit oder dieselbe Leichtigkeit ihres Nachweises ergeben müßte.

Dem ist jedoch nicht so. Denn besagte Hüllen erscheinen unter einem, bei den verschiedenen Bakterienarten stets verschiedenen Bilde; außerdem lassen sich mit dem *B. subtilis* fast ohne Ausnahme Präparate von dem erwähnten Aussehen erhalten, während beim *Staphylococcus* und beim Milzbrandbacillus dies bedeutend schwieriger ist, beim Typhusbacillus die gut gelungenen Präparate viel seltener sind, und schließlich beim Choleravibrio die Hülle nur unter ganz besonderen Verhältnissen nachgewiesen werden kann. Ich habe sogar, wie auch De Rossi, nachzuweisen vermocht, daß die von ihm zur Geißelfärbung empfohlene Flüssigkeit ganz verschiedenen Erfolg abgibt, je nach der Zeit, die zwischen ihrer Zubereitung und ihrer Verwendung verstreicht. Als ich dann die Färbung bei den erwähnten Bakterien zu gleicher Zeit vornahm, habe ich auch noch feststellen können, daß das Ergebnis ver-

schieden war, und diese Verschiedenheit nicht nur in Beziehung stand zur Zeit der Verwendung der Flüssigkeit, sondern überdies auch von dem jeweiligen Keim abhing, mit dem die Reaktion versucht wurde. So kann zuweilen beobachtet werden, daß die Flüssigkeit, die bei der Färbung der Geißeln und der Hülle des Typhusbacillus gute Dienste leistet, kaum noch die Geißeln des Choleravibrio zu färben imstande ist, während eine andere Flüssigkeit die Hüllen und Geißeln der Kochschen Vibrionen wohl zu färben vermag, nur unzureichend jedoch die Geißeln und die Hülle des Typhusbacillus hervortreten läßt.

Wahrscheinlich hängt dieser Umstand mit der Veränderung der Färbeflüssigkeit zusammen, die möglicherweise infolge von Reaktionen zustande kommt, die nach und nach zwischen den einzelnen Bestandteilen derselben ablaufen. Ebenso wahrscheinlich ist es jedoch, daß die Hülle, die sich in allen Fällen demselben Mittel gegenüber wie die Geißeln verhält, als ein wohlbestimmtes Gebilde anzusehen ist, dessen Substanz keine andere ist, wie die der Geißeln. Wäre dem nicht so, so befänden wir uns bei jeder Bakterie vor dem Auftreten von drei Bildungen (Hülle, umgebender Saum, Geißeln), die in Hinsicht auf die Wirkung der Färbeflüssigkeit parallel gehen, deren wirkliches Bestehen wir jedoch bei den einen annehmen und bei den anderen in Abrede stellen müßten.

Es steht außer Frage, daß in einigen Fällen die Hülle nicht zutage treten kann, und das nicht seltene Vorhandensein mehrerer und verschieden gelagerter Bakterienkörper in ein und derselben Hülle anscheinend nicht ganz mit dem übereinstimmt, was wir im hängenden Tropfen beobachten können, wo die einzelnen sehr beweglichen Keime fast alle isoliert und untereinander frei daliegen. Kann uns dies nun auch dazu drängen, nach der genauen Auslegung zu suchen, so will es mir doch nicht schwerwiegend genug erscheinen, um ohne weiteres das Bestehen einer Tatsache auszuschließen, die in deutlicher und unverkennbarer Weise sich erkennen läßt.

Uebrigens fehlt es auch nicht an Beispielen bei anderen Bakterien, bei denen eine ähnliche Erscheinung sich noch viel deutlicher nachweisen läßt. Es kann nämlich bei einigen Askokokken und Askobakterien rings um jedes isolierte Element herum eine Substanz beobachtet werden, die den Bakterienkörper mehr oder weniger weit umgibt. Finden wir uns aber Zooglöen gegenüber, so ist kein Abstand mehr zwischen den einzelnen Bakterienkörpern sichtbar, noch sind diese von der besagten Substanz voneinander getrennt, sondern erscheinen aneinander geschoben, wobei die beschriebene Substanz die Bakteriengruppe in Masse umgibt und nur an der Peripherie sichtbar wird, wie wenn es sich da um wirkliche Zellverbände handelte. Es zeigt sich da also dasselbe, was auch bei der Bildung der Diplokokken und Tetragonen beobachtet werden kann, bei denen die chromatischen Teile der einzelnen Elemente sich gegenseitig genähert haben, ohne daß die Kapsel regelmäßig ein jedes derselben umgibt. Eine ähnliche Erscheinung läßt sich auch wahrnehmen, wenn wir die Geißeln der peritrichischen Bakterien in den Präparaten färben, in denen sich die Keime in großer Anzahl angehäuft finden. In diesem Falle treten die Geißeln immer sehr deutlich und ganz außerordentlich zahlreich aus der Peripherie der Bakterienmasse hervor, nicht so aber in den Zwischenräumen zwischen den einzelnen Bakterienkörpern, die miteinander fast in inniger Berührung stehen. Und doch will es einem in diesem Falle fast so vorkommen, als ob bei der Gegen-

wart der so zahlreichen Geißeln die verschiedenen Bakterienkörper weiter auseinanderstehen müßten.

Ich ließ es nicht unversucht, auch auf anderen Wegen einen Beweis für das zu finden, was mir die De Rossischen Färbemethode enthüllt hatte.

Leider haben mir aber die andern zur Färbung der Geißeln an-geratenen Verfahren selbst bei den Geißeln keine so klaren Bilder ge-liefert, wie die mit dem De Rossischen Verfahren erhaltenen. Mehr noch mußte dies also der Fall sein bei Färbung von Gebilden, die nur sehr schwer in einem Zustande zu erhalten sind, der ihre Erkennung gestattet. Außerdem ist es bei der Umständlichkeit dieser Verfahren eine äußerst mühevollen und vergebliche Sache, bei jeder derselben den zur Färbung jeder einzelnen Bakterienart geeignetsten Punkt heraus-zufinden, während dies mit der De Rossischen Methode ihrer ganz besonderen Einfachheit wegen leichter möglich war.

Auch die Fixierung der Präparate mit den verschiedenen chemischen Reagentien und ihre Färbung mit mehreren andern Mitteln, worunter sich auch die von verschiedenen Verfassern zur Unterscheidung des Kerngebildes bei vielen Bakterien befanden, haben mich zu keinen be-sonders zufriedenstellenden Ergebnissen geführt. Im besten Falle ist es mir dabei gelungen, um die Bakterienkörper herum bei einigen einen dünnen, hellen Raum, bei andern einen ziemlich dünnen, aber vom Bakterienkörper wohl unterscheidbaren Saum zu erblicken.

Weder die mit Hilfe der seitlichen Beleuchtung im Dunkelfeld und dem Paraboloidkondensator vorgenommene Prüfung, noch die Vitalfärbung mit Neutralrot, Methylblau, Fuchsin usw. haben mir auch nur den ge-ringsten bemerkenswerten Beitrag geliefert.

Nun stehen aber zur Bestätigung der mit der De Rossischen Methode erhaltenen Ergebnisse diesen unzureichenden Resultaten andere Beobachtungen zur Seite, deren Erfolg ohne Zweifel eine viel größere Bedeutung hat, Beobachtungen, die uns dahin führen, um den Bakterien-körper herum das Bestehen eines Gebildes anzunehmen, das sich von dem Bakterienkörper deutlich unterscheidet.

Unter diesen verdient die Prüfung im hängenden Tropfen, die Be-obachtung der Bakterienteilung, sowie die Bildung der Kolonien unsere ganz besondere Aufmerksamkeit.

Mit der Prüfung im hängenden Tropfen gelingt es immer, um die untersuchten Bakterien herum einen nicht weiten, äußerst hellen, durch-scheinenden, kleinen Hof wahrzunehmen. Dieser kleine Hof umgibt die einzelnen isolierten Elemente, umhüllt aber auch mehrere Bakterien-körper auf einmal und zwar gruppenweise, wie dies bei den Staphylo-kokken der Fall ist, oder in Kettenform, wie dies beim Milzbrandbacillus, beim Heubacillus und beim Typhusbacillus vorkommt. Bei den Diplo-bacillenformen des Typhusbacillus liefert uns das Bestehen dieses, zwei Segmenten gemeinen, kleinen Hofes sogar die Erklärung dafür, wie sie an ihren Enden fest vereinigt bleiben, gerade als ob sie ein einziges Element ausmachten, trotzdem sie mit ihrer typischen schlängelnden Bewegung das Gesichtsfeld des Mikroskops durchkreuzen.

Die den peribakterischen, kleinen Hof ausmachende Substanz weist stets eine sehr deutliche, schwankende Bewegung auf, die am stärksten beim Staphylococcus, beim *B. subtilis* und beim Milzbrandbacillus hervortritt (besonders bei den kurzen, von sehr jungen Kulturen er-haltenen Segmenten).

Während dann der hängende Tropfen auch die Prüfung der Teilung der unbeweglichen Bakterien gestattet, muß dies in bezug auf die beweglichen Bakterien absolut verneint werden. Ebenso wenig gestattet der hängende Tropfen die Beobachtung der Kolonienbildung. Aus diesen Gründen habe ich mich eines Verfahrens bedient, das mich befähigte, die Entwicklung der auf Agar gezüchteten Keime zu verfolgen.

Nachdem ich nämlich auf einer sterilisierten Platte eine dünne Schicht Agar ausgebreitet hatte, habe ich sie mit einer dünnen Bakterienemulsion beschickt, mit dem kleinen Platinspatel einen geringen Teil der Agarschicht abgetragen und auf die untere Fläche eines sterilisierten Deckglases verbracht, welches letzteres ich dann gerade so mit einem hohlen Objektträgerglas in Verbindung brachte, wie dies zur Prüfung der Präparate im hängenden Tropfen gewöhnlich gemacht wird. Wird das Objektträgerglas auf der auf 37° erhitzten und am Stativ des Mikroskops fixierten Platte angebracht, so fällt es bei einiger Geduld nicht schwer, die einzelnen Bakterienelemente aufzufinden. Sie sind in Berührung mit der unteren Oberfläche des Deckglases, wo sich alle Phasen ihrer Teilung verfolgen lassen. Erleichtert kann diese Beobachtung unschwer dadurch werden, daß die Wirkung des Lichtes durch eine bewegliche Blende aus schwarzem Papier beeinträchtigt wird, die jedes Mal unter der Stativplatte angebracht wird, während die seitlichen Teile und der vordere Teil ebenfalls mit schwarzem Papier umzogen werden.

Bei einem solchen Züchtungsverfahren erscheinen auch die sonst im hängenden Tropfen am lebhaftesten sich bewegenden Bakterien, wie der Typhusbacillus, vollständig unbeweglich. Sie lassen rings herum den gewohnten, glänzenden, kleinen Hof erkennen, wie solcher auch bei der Prüfung mit den andern Verfahren beobachtet worden ist.

Fixiert man im mikroskopischen Gesichtsfeld zum Beispiel einige zu dem einer Typhusbacillenkultur entnommenen Material gehörende Elemente, und beobachtet dann in kurzen Zeitabständen, so sehen wir, wie die einzelnen kleinen Bacillen nach und nach länger werden. Dann erscheint in ihrer Mitte das deutliche Zeichen ihrer Teilung in Form der den Bacillenkörper durchziehenden, glänzenden Zone, die derjenigen gleicht, die den ganzen übrigen Bakterienkörper umgibt. Auf diesem Punkte angelangt, bleiben die beiden Segmente nicht dauernd an ihren Enden vereinigt, sondern es gleitet nach nicht langer Zeit mit einer außerordentlich langsamen und absolut nicht wahrnehmbaren Bewegung das eine über das andere hin, bis dann nach einer sehr geraumen Zeit beide an ihren Seitenrändern zusammengekoppelt sind. Daraufhin wird der eine oder beide der neuen Bacillen auf die erwähnte Art länger und teilt sich neuerdings, wobei die neuen Segmente sich teilweise an die Seite der ersten legen, mit denen sie also mehr oder weniger schief auf einer mehr oder weniger großen Strecke des Seitenrandes in Berührung kommen. Nach mehrstündiger Beobachtung lassen sich auf diese Weise Bakterienhaufen erblicken, in denen die einzelnen Elemente ebenso vereinigt erscheinen, wie viele derselben in den gefärbten Präparaten auf den Objektträgern, die mit in Wasser verdünntem Material hergestellt worden waren.

Es besteht demnach die Wahrscheinlichkeit, daß wo diese verschiedenen Lagerungen in den gefärbten Präparaten zu sehen sind, sie nicht allein von der Annäherung der einzelnen Elemente während der Verdunstung des Wassers, in dem sie aufgeschwemmt sind, herrühren

können, sondern auch von einer unvollständigen Trennung der schon vorher vereinigten.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Substanz, die die Bakterien auf festen Nährböden in Kolonien zusammenhält, und so leicht schmilzt, wenn sie das Mittel bildet, in dem sich die zu Zoogloen vereinigten Bakterien befinden, einen ganz verschiedenen Flüssigkeitsgrad besitzt, demzufolge sich die Bakterien bald getrennt und auf das ganze flüssige Mittel zerstreut vorfinden, bald aber auch zu mehr oder weniger schleimigen Massen vereinigt, die zuweilen eine noch größere Dichtigkeit annehmen und dann sogar äußere, zähe Schleier oder Häutchen bilden können.

Nun vermögen wir aber keinesfalls auszuschließen, daß diese Substanz dieselbe ist, wie diejenige, die wir schon um die Bakterienkörper herum beschrieben haben. Wir haben gesehen, daß sie zuweilen in Form einer Zone erscheint, die um viele, verschiedene Bakterien herum ganz deutlich zutage tritt (gekapselte Bakterien) und so leicht färbbar ist, daß sie bei dem aus dem Mäuseblut herrührenden *Pneumococcus* sich auch mit einer einfachen, wässerigen Eosinlösung färben läßt. Andere Male dagegen gelingt es mit den verschiedenen Reagentien nur äußerst schwer, sie deutlich hervortreten zu lassen, wobei sie sich als helle, durchscheinende, um den Bakterienkörper herum gelagerte Zone zeigt. Nicht selten schließlich behält sie auch infolge ihrer leichten Lösbarkeit in der umliegenden Flüssigkeit nur äußerst schwer selbst dieses Aussehen.

Es bleibt nun noch festzustellen, ob diese die um die untersuchten Bakterienkörper herum beschriebene Hülle abgebende Substanz einen nebensächlichen, oder einen wesentlichen Teil des Keims darstellt, und ob die Geißeln wirklich direkt von ihr abhängen.

Wie ich schon in meiner vorhergegangenen Arbeit dargetan habe, kann man nicht annehmen, daß die Geißeln bei der Verrichtung, die sie zu erfüllen haben, der Nebenteil einer amorphen Substanz sein können, die keinen wesentlichen, sondern einen nebensächlichen Bestandteil des Bakteriums bildet.

Auch bei den Protozoen stehen die Wimpern und Geißeln immer in innigstem Zusammenhang mit den lebensfähigsten Teilen des Zellelements, gleichviel ob sie von außen her ohne deutlichen Unterschied ins Ektoplasma übergehen können, wie dies Doflein in einigen Fällen beschreibt, oder, wie dies zumeist der Fall ist, ihr Entstehen im Innern der Zelle mit besonderen Organen verschiedener Struktur in Zusammenhang steht¹⁾.

Eine solch innige Beziehung zum Protoplasma und vielleicht auch zum Kern läßt sich auch bei den Wimpern des Flimmerepithels komplizierterer Organismen wahrnehmen.

Daraus ergibt sich die Möglichkeit zweier verschiedenen Annahmen. Entweder stellt nämlich die ganze, das Bakterium umgebende Substanz ein wirkliches Protoplasma dar, eine Ansicht, die auch von Babes und anderen Forschern ausgesprochen worden ist, und die Geißeln sein direktes Abstammungsprodukt, oder aber es stellt die ganze Substanz eine amorphe Hülle dar, die sich auch längs der mit dem Bakterienkörper verbundenen und wahrscheinlich ihrer außerordentlichen Dünne wegen

1) Ueber das Wesen dieser besonderen Bildungen sind die Ansichten noch geteilt; ich verweise deshalb alle diejenigen, die auf diese Frage weiter eingehen wollen, auf die Werke von Prenant, Doflein, Minchin und die anderen darin angegebenen Arbeiten.

mit den gewöhnlichen Verfahren nicht erkennbaren Geißeln hinzieht. Auf diese Weise wäre also das, was wir färben, nicht die wirkliche Geißel, sondern ihre Hülle, ihre Scheide. Diese letzte Annahme der Invagination eines zentralen, mit dem Bakterienkörper in Verbindung stehenden Fadens wäre auch dann nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, wenn wir die Bakterienhülle für ein Protoplasmagebilde erklären wollten, denn es genügt, in dieser Hinsicht vor Augen zu behalten, daß auch die Geißeln einiger Protozoen aus einer elastischen Zentralachse, die von dem Blepharoplast her stammt, und einer Scheide ektoplasmatischen Ursprungs bestehen.

Die beobachteten Erscheinungen widersprechen weder der einen, noch der anderen dieser Deutungen absolut. Es läßt sich aber nicht leugnen, daß die erste ihrer größeren Einfachheit wegen uns zusagender ist.

Auf jeden Fall ist es uns bekannt, daß die Fähigkeit, Agglutinine zu binden, bei den Bakterien vorwiegend und fast ausschließlich in den Geißeln lokalisiert ist (De Rossi), sowie daß bei der Agglutinationserscheinung sich auf dem Boden des Reagenzglases eine Masse absetzt, die an Volumen und Aussehen sehr verschieden ist von der, die bei dem einfachen Niederschlag der Bakterien beobachtet wird.

Diese Verhältnisse ließen nun sehr folgerichtig daran denken, daß an diesen Erscheinungen auch jene eigentümliche Substanz teilnimmt, die den Bakterienkörper einhüllt und sich so leicht in der sie umgebenden Flüssigkeit auflöst.

Damit würde aber immerhin diese Hülle, gleichviel ob sie zusammen mit den Geißeln ein wirkliches Protoplasma darstellt, oder aber nur einen nebensächlichen, peribakterischen Ueberzug, eine große Bedeutung und einen beträchtlichen biologischen Wert gewinnen. Die Lösung dieser Seite des Problems soll jedoch weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Das im Vorstehenden Auseinandergesetzte scheint mich indessen zu nachfolgenden Schlüssen zu berechtigen:

1) Sowohl bei den peritrichen Bakterien (*Typhusbacillus*, *B. subtilis*), wie auch bei den monotrichen (*Choleravibrio*) und anderen geißellosen Bakterien (*Staphylococcus pyogenes aureus*, *Milzbrandbacillus*) läßt sich um den Bakterienkörper herum eine besondere Hülle von verschiedener Dicke nachweisen.

2) Bei den Geißeln führenden Bakterien sieht man die Geißeln aus dem Rande der Hülle hervortreten, gleichviel ob diese klein ist, oder größere Dimensionen aufweist. Hülle und Geißeln nehmen untereinander die Farbe in derselben Weise an, anders aber als der Bakterienkörper.

3) Es ist wahrscheinlich, daß die Hülle und die Geißeln, so, wie wir sie gefärbt haben, den protoplasmatischen Teil des Bakteriums darstellen. Es wird diese Wahrscheinlichkeit der Gewißheit noch näher gebracht durch den Umstand, daß die Hülle bei den Präparaten im hängenden Tropfen eine eigentümliche, schwankende Bewegung aufweist, die für eine äußerst vitale Erscheinung gelten könnte. Ausgeschlossen kann aber nicht werden, daß die Gebilde, die sich uns im Gewande von Geißeln darbieten, weiter nichts sind, als ihre Hüllen, ihr Ueberzug, und daß die wirklichen Geißeln, auch wenn sie dem Bakterienkörper entstammen, nicht erkennbar gemacht werden können. In diesem Falle

könnte die Hülle des Bakteriums auch einen nebensächlichen Teil darstellen.

4) Ganz abgesehen von der Bedeutung, die der Hülle in Beziehung zur Beschaffenheit der Bakterien beigelegt werden mag, ist es wahrscheinlich, daß ersterer doch besonders im Hinblick auf die Erscheinungen, die unter der Einwirkung der Immunsereen eintreten, eine große biologische Bedeutung zukommt.

Herrn Prof. Dr. Guarnieri sage ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für die wertvollen Ratschläge, mit denen er stets meine Untersuchungen unterstützt.

Pisa, Juni 1913.

Nachtrag bei der Korrektur.

In Heft 1/2 dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913 erschien eine Arbeit von Carpano: „Ueber die Kapselhülle einiger Bakterien“.

Ich bemerke mit vielem Vergnügen, daß der Teil, der vom Typhusbacillus handelt, meine in Pathologica. 1912. No. 99 und 1913. No. 108. 1. Mai veröffentlichten Befunde bestätigt, obwohl sie nicht zitiert sind.

A. Marrassini.

Literatur.

- Babes, Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben- und Kapselbildung pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. 1895.)
- Baher and Kantor, A comparative study of methods for staining the capsules of bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.)
- Beham, Die agglutinatorischen Eigenschaften der Kapselbacillen und die Anwendung der Serumagglutination bei den Trägern von Kapselbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912.)
- Binaghi, zitiert von Eisenberg.
- Boni, Methode zur Darstellung einer „Kapsel“ bei allen Bakterienarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900.)
- Bordet, Ueber die Wirkungsweise der aktiven Substanzen im Blutserum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1900.)
- Bouin, Contribution à l'étude du noyau des levures. (Arch. d'Anat. microsc. 1898.)
- Bütschli, Ueber den Bau der Bakterien. Leipzig 1890.
- Burger, Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien, zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselten Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905.)
- Chyosa, Ueber die agglutinable Substanz. (Arch. f. Hyg. Bd. 72. 1910.)
- De Rossi, Sui fenomeni di agglutinazione dei batteri. (Arch. per le Sc. med. Vol. 28. 1904.)
- Dobell, Contributions to the cytology of the bacteria. (Quart. Journ. of microscop. Sc. Vol. 56. 1911.)
- Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. 3. Aufl. 1911.
- Douglas et Distaso, Sur un nouveau bacille dont le noyau est très évident. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.)
- , Ueber den Kern der Bakterien. (Ebenda Bd. 66. 1912.)
- Eisenberg, Studien zur Ektoplasmatheorie. T. I. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.) T. II. (Ebenda Bd. 49. 1909.)
- Ernst, Ueber Kern- und Sporenbildung bei den Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.)
- Feinberg, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900.)
- Fischer, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. 27. 1895.)
- , Vorlesungen über Bakterien. Jena 1897.
- Fischöder, Beiträge zur Kenntnis des Milzbrandes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909.)
- , Nochmals zur Schutzwirkung der Milzbrandkapsel. (Ebenda. Bd. 60. 1911.)

- Fürst, Untersuchungen über Kapsel- und Hüllenbildungen bei den sogenannten Kapselbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910.)
- Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.)
- Hinterberger, Bemerkungen zu der Frage, ob *Bacillus anthracis* Geißeln bildet und Hüllen hat. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908.)
- Kayser, Eine Fixierungsmethode für die Darstellung von Bakterienkapseln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.)
- Kern, Ueber die Kapsel des *Anthraxbacillus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897.)
- Kodama, Ueber Kapselbildung der Milzbrandbacillen bei der Züchtung auf Schrägagar. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62—63. 1912.)
- Kühnemann, Ueber Veränderungen der Geißeln bei der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.)
- , Ueber Kapselbildung beim *Typhusbacillus*. (Ebenda Bd. 57. 1911.)
- Kunstler et Busquet, Observations sur la structure des bactériacées et des organismes voisins. Bordeaux 1898.
- , Sur la valeur nucléaire du corps central des bactéries. (Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 1897.)
- Kuwabara, *Bact. coli* mit enormer Kapselbildung bei Panophthalmie. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 60. 1908.)
- Lenhard, Ueber die sogenannte Immunisierung des Milzbrandbacillus nach Denys. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911.)
- Macé, *Traité pratique de bactériologie*. 5. éd. Paris (Baillière et fils) 1904.
- Marginesu, Sulle capsule e sugli involucri di alcuni germi appartenenti al gruppo dei cosiddetti „b. capsulati“. (Atti della R. Accad. dei Fisiocritici di Siena. 1912. No. 5—6.)
- Marrassini, Sopra un germe isolato da un caso di febbre tifoide in un soldato reduce dalla Libia. (Pathologica. 1912. No. 99.)
- , Sulla presenza di un involucro intorno al corpo di alcuni batteri, e sulla sua particolare importanza. (Ibid. 1913. No. 108.)
- Marx u. Woiithe, Morphologische Untersuchungen zur Biologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900.)
- Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena 1912.
- Migula, Ueber sogenannte Kapselbildung bei Bakterien. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1896.)
- Minchin, An introduction to the study of the protozoa. London (Arnold) 1912.
- Nakanishi, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 50. 1910.)
- Nötzel, Ueber den Nachweis von Kapseln an Mikroorganismen. (Fortschr. d. Med. Bd. 14. 1906.)
- Ottolenghi, Ueber die Kapsel des Milzbrandbacillus. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. 1912.)
- Pane, Sulla genesi della capsula del b. del carbonchio. (Pathologica. 1912. No. 81.)
- Podwissotski et Taranoukhine, Contribution à l'étude de la plasmolyse chez les bactéries. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 12. 1898.)
- Porges u. Eisler, Ueber die Differenzierung der Kapselbakterien mit Hilfe agglutinierender und präzipitierender Immunsere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906.)
- Preis, Experimentelle Studien über Virulenz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)
- , Studien über das Variieren und das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. (Ebenda Bd. 58. 1911.)
- , Die Schutzwirkung der Kapsel für den Milzbrandbacillus. (Ebenda Bd. 61. 1912.)
- Prénant, Bouin et Maillard, *Traité d'histologie*. T. 1. Paris (Masson) 1904.
- Proca, Action des sérums agglutinants sur les cils. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 72. 1912.)
- Protopopoff, Sur la question de la structure des bactéries. (Annales de l'Inst Pasteur. 1891.)
- Reichert, Ueber die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909.)
- Rocchi, Ueber die sogenannten Riesen- oder zusammengesetzten Geißeln der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911.)
- Rosenow, A new stain for bacterial capsules with special reference to pneumococci. (Journ. of infect. Dis. Vol. 9. 1911; Journ. of the Americ. med. Assoc. Vol. 56. 1911.)
- Toenissen, Untersuchungen über die Kapsel der pathogenen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912.)
- van Tieghem, Observations sur les bactériacées vertes. (Bull. de la Soc. bot. de France. 1880.)

- Trambusti u. Galeotti, Neuere Beiträge zum Studium der inneren Struktur der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892.)
 Wagner, Coli- und Typhusbakterien sind einkernige Zellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898.)
 Zettnow, Ueber den Bau der großen Spirillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897; Ebenda Bd. 30. 1899; Ebenda Bd. 57. 1908.)

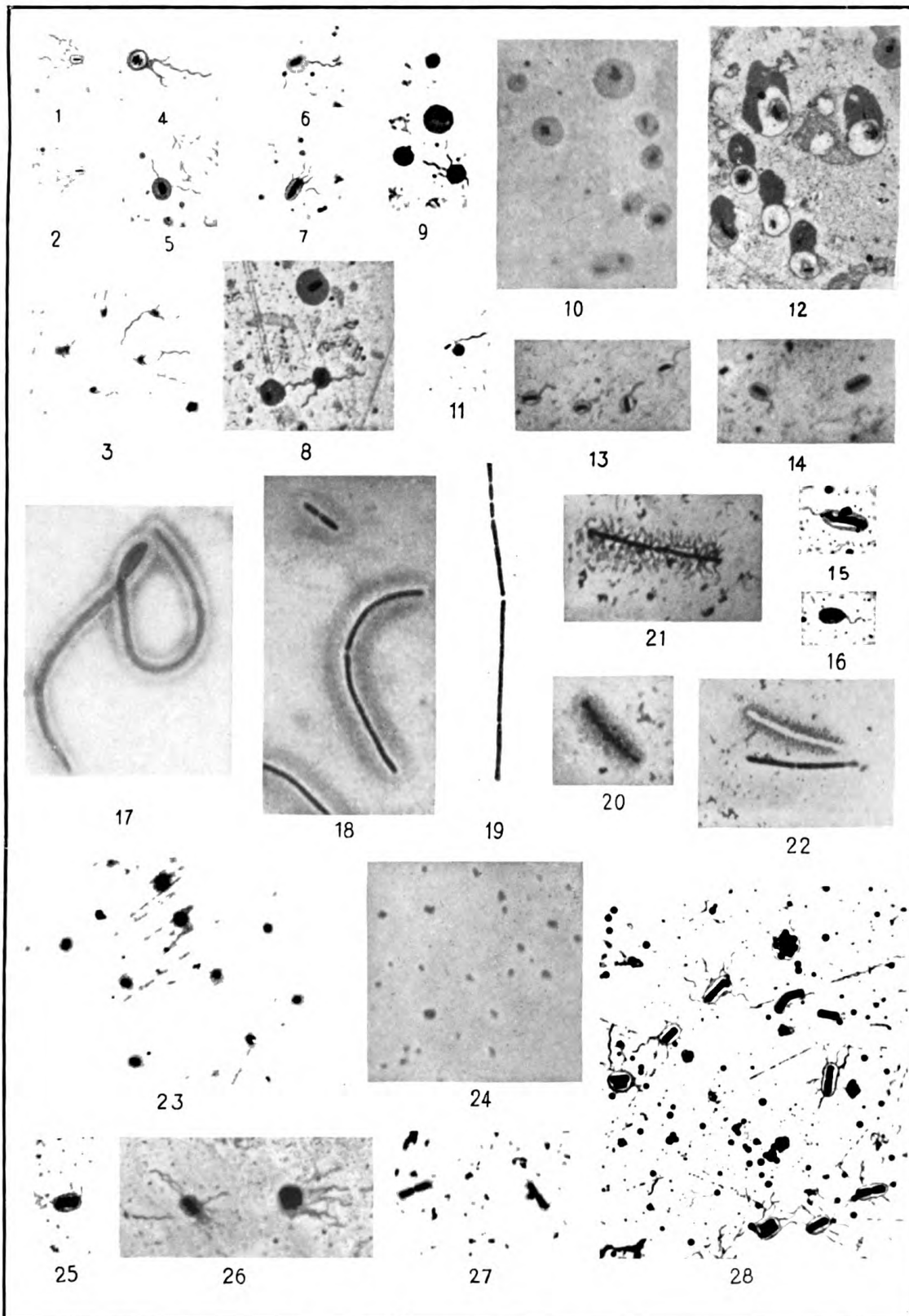
Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

- Fig. 1 u. 2. Typhusbacillus. Vom Bakterienkörper durch einen hellen Raum getrennter Saum. Die Geißeln treten aus dem Saum hervor.
 Fig. 3. Typhusbacillus. Dünne Hülle, von der Geißeln ausgehen.
 Fig. 4. Typhusbacillus. Drei innerhalb desselben Saumes enthaltene Bakterienkörper, von denen die Geißeln ausgehen.
 Fig. 5—9. Typhusbacillus. Weite Hülle, aus der die Geißeln hervortreten.
 Fig. 10. Typhusbacillus. Verschiedene Hüllen enthalten zwei verschieden gelagerte Bakterienkörper.
 Fig. 11. Typhusbacillus. Fortbestehen des Saumes mit der Geißel nach dem Austreten der Hüllensubstanz.
 Fig. 12. Typhusbacillus. Verschiedene Phasen des Austritts der Hüllensubstanz.
 Fig. 13. Cholera vibrio. Innerhalb des Saumes enthaltene Bakterienkörper, mit denen die Geißel in Verbindung steht. Die Hüllensubstanz ist ausgetreten.
 Fig. 14 u. 15. Cholera vibrio mit Hülle, die in einigen Elementen mit der Geißel verbunden ist.
 Fig. 16. Cholera vibrio mit Hülle, an der die Geißel haftet. Der Bakterienkörper ist in Teilung begriffen.
 Fig. 17—19. Milzbrandbacillus mit Hülle.
 Fig. 20. Milzbrandbacillus mit schwammig aussehender Hülle.
 Fig. 21. Milzbrandbacillus. Die Hülle ist größtenteils zusammengeschmolzen, nur das Gerüst ist geblieben.
 Fig. 22. Milzbrandbacillus. Die Bacillenkörper haben die Hüllen verlassen.
 Fig. 23. Staphylokokken mit Hülle.
 Fig. 24. Staphylococcus pyogenes aureus. Negativbilder der Hülle.
 Fig. 25—27. B. subtilis. Weite, die Bakterienkörper enthaltende Hülle. Aus der Hülle treten zahlreiche Geißeln hervor.
 Fig. 28. B. subtilis. Die auf den Saum reduzierte und von den Bakterienkörpern durch einen deutlichen Raum getrennte Hülle. Von dem Saum gehen zahlreiche Geißeln aus.

Tafel II.

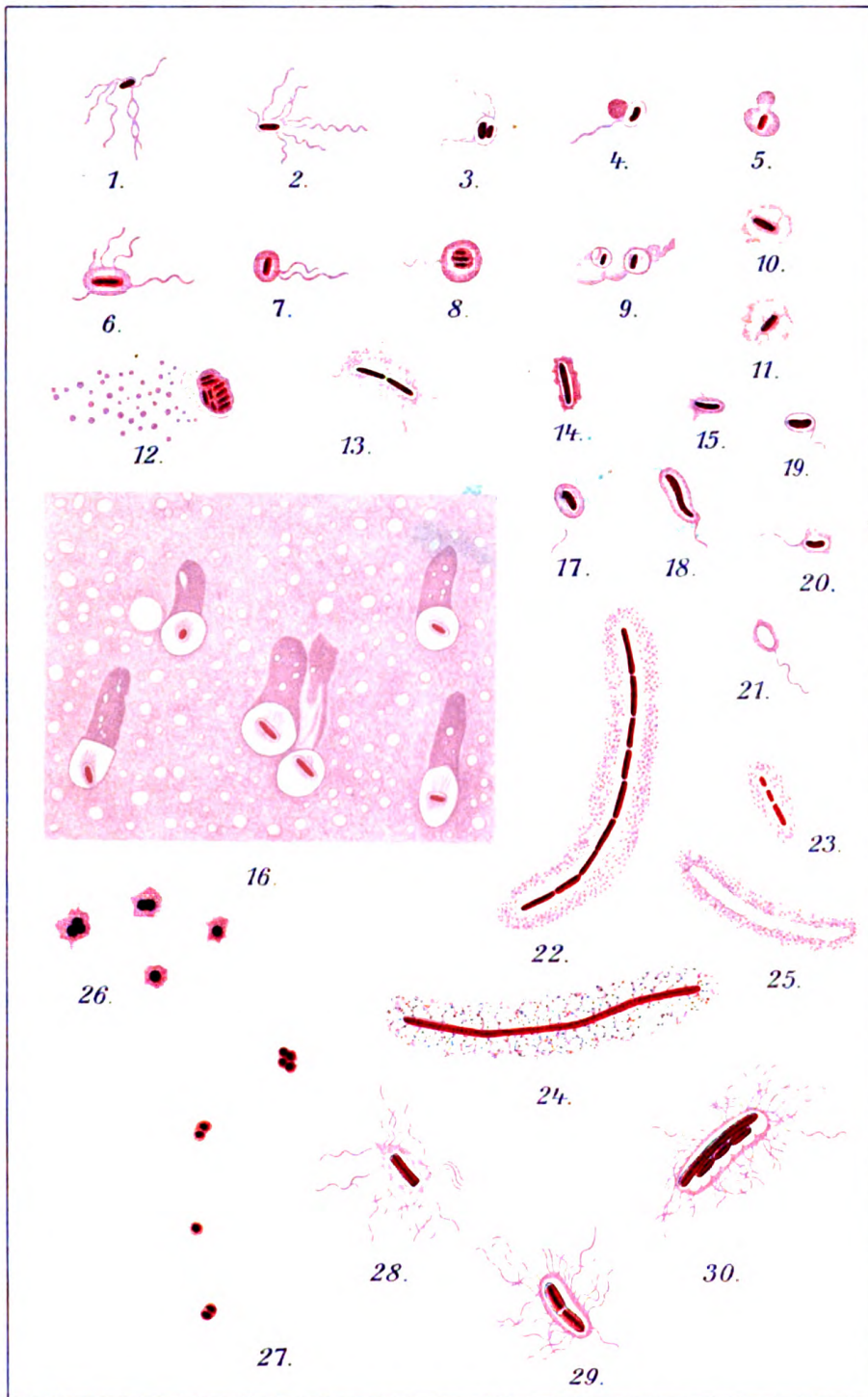
- Fig. 1. Typhusbacillus. Die Geißeln scheinen unmittelbar vom Bakterienkörper auszugehen.
 Fig. 2 u. 3. Typhusbacillus. B. mit einem vom Bakterienkörper durch eine farblose Zone abgetrennten Saum.
 Fig. 4. Typhusbacillus. Uebrigbleibender Saum nach der Entleerung der in ihm enthaltenen Substanz.
 Fig. 6, 7, 8, 13, 14, 15. Typhusbacillus. Hülle, die einen oder mehrere Bakterienkörper umfaßt. Die Geißeln treten aus dem Saum hervor.
 Fig. 5, 9, 10, 11, 12, 16. Typhusbacillus. Verschiedene Phasen des Austritts der Hüllensubstanz.
 Fig. 17—18. Cholera vibrio hülle, die den Bakterienkörper umschließt. Die Geißeln erstehen aus dem Saum der Hülle.
 Fig. 19—20. Cholera vibrio. Der Saum nach der Entleerung der Substanz, die die Hülle bildet. Die Geißeln gehen vom Saum aus.
 Fig. 21. Cholera vibrio. Saum und Geißel, die nach dem Ausgang der Bakterienkörper übrig bleiben.
 Fig. 22—23. Milzbrandbacillus mit Hülle.
 Fig. 24. Milzbrandbacillus. Netzartige Hülle.
 Fig. 25. Milzbrandbacillus. Die übrigbleibende Hülle nach dem Austritt des Bakterienkörpers.
 Fig. 26. Staphylokokken mit Hülle.
 Fig. 27. Staphylococcus p. aureus. Negativbilder der Hüllen.
 Fig. 28—30. B. subtilis. Verschiedene Bilder der Hülle mit den aus derselben erstehenden Geißeln.



A. Marrassini phot.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

PROPERTY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



L. Lupini gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Nachdruck verboten.

Ueber *Violaceus* und *Membranaceus amethystinus*.

[Aus dem staatlichen Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt Hamburg. Direktor: Prof. Dr. Dunbar; Abteil.-Vorst.: Prof. Dr. Kister.]

Von **J. H. Bampton**, M. B. B. Sc. (Walter Meyers student, Birmingham).

Mit 1 Tafel und 3 Textfiguren.

Bei zahlreichen praktischen Versuchen zur Feststellung der Bodendurchlässigkeit anlässlich hydrologischer Untersuchungen im hamburgischen Landgebiet hatte es sich als zweckmäßig herausgestellt, außer den meist benutzten *Prodigiosus*-Bakterien noch *Violaceus*-Kulturen, die zuerst von Fränkel und Piefke¹⁾ bei ihren grundlegenden Arbeiten über die langsame Sandfiltration angewendet wurden, heranzuziehen. Da bei derartigen Versuchen eine genaue Kenntnis der angewendeten Bakterien wünschenswert ist, die Angaben in der Literatur²⁾ über diese Bakterien aber nicht ganz übereinstimmen, sowie ihre biologischen Eigenschaften noch nicht untersucht sind, habe ich mich auf Veranlassung und unter Anleitung von Herrn Dr. L. Schwarz mit der Untersuchung der *Violaceus*-Gruppe sowie 4 verschiedener *Membranaceus*-Stämme, die ebenfalls einen violetten Farbstoff bilden, beschäftigt.

Um außer den 5 Hamburger *Violaceus*-Stämmen möglichst noch andere zu erhalten, erbaten wir von verschiedenen Instituten sowie befreundeten Kollegen *Violaceus*-Kulturen, und wir sind den Herren Prof. Dr. R. O. Neumann (Gießen), Prof. Dr. G. Mayer (München), Dr. Houston (London), Dr. Meyer (Bremen), Dr. Prausnitz (Breslau), Dr. Frey (Göttingen) für gütige Ueberlassung der betreffenden Kulturen sehr dankbar.

Es soll nun zuerst eine Varietät von *Violaceus* genauer, dann in Kürze die abweichenden Eigenschaften der anderen 17 von uns untersuchten Stämme in Anlehnung an die bakteriologische Diagnostik von Lehmann-Neumann beschrieben, die Gegensätze zu den in der Literatur vorhandenen Angaben angeführt, in gleicher Weise der *Membranaceus amethystinus* behandelt, alsdann die Resistenz der Stämme gegen höhere Temperaturen, die Eigenschaften des Farbstoffes, soweit wir ihn haben untersuchen können, die Intensität der Farbstoffbildung und schließlich das serologische Verhalten bezgl. Agglutination, Präzipitierung und Komplementbindung besprochen werden.

Bacterium Violaceum, Stamm Hamburg I.

Mikroskopisches Aussehen (24-stündige Agarkultur, 22° C). 2,1—4,2 μ lange, weniger als 0,5 μ dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden, in jungen Kulturen auch kurze, in älteren Kulturen längere Fäden bildend.

Beweglichkeit: Rotierend, vibrierend, schlängelnd, von ähnlichem Verhalten wie die Beweglichkeit der Typhusbacillen. Geißeln 3—4, peritrich, 1—2 polar.

Färbbarkeit: Nach Gram negativ (Methylviolettkarbonsäure, Jodjodkalium, entfärben mit Acetonalkohol; Gegenfärbung mit Karbolfuchsin 1 + 9). Die Färbung ist meist nicht homogen; in manchen Fällen erscheinen auch bei der Gram-Färbung

1) Fränkel u. Piefke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 1.

2) Lehmann u. Neumann. München 1912. — Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik. 1891. — Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Leipzig 1896.

stärker tingierte Körnchen in dem Bakterienleib, die bei Anwendung der Neisserschen Diphtheriefärbung bei längerer Färbedauer als für Diphtherie im allgemeinen angewendet wird, deutlich hervortreten, so daß die *Violaceusbakterien* Diphtheriebacillen sehr ähnlich sehen, bzw. nicht davon zu unterscheiden sind. Die blau gefärbten Körperchen sind meist endständig, manchmal mittelständig, nehmen meist nicht die ganze Breite des Bakterienleibes ein; manchmal sind sie jedoch voluminöser als die braun tingierten Bakterien. Sporen nicht vorhanden; die Stäbchen sind nicht säurefest.

Wachstum: Mäßig schnell, am besten bei Zimmertemperatur; auch bei Eisschranktemperatur (+ 6°) findet gutes Wachstum sowie recht gute Farbstoffbildung statt. Bei 37° C kein Wachstum.

Gelatineplatte: (Alkalität 0,054—0,058). Nach 24 Stunden sehr schwach bläulich-weiße Punkte, nach 2—4 Tagen etwa 0,5 mm im Durchmesser betragend, zeigen die Einsenkungsschalen der Oberflächenkolonien das Aussehen von Luftblasen mit tief violetterm Zentrum. Nach der Peripherie hin geht die Färbung, allmählich schwächer werdend, ins braungelbliche über und zeigt gröbere Körnelung als das feingekörnte Zentrum. Einige Kolonien sind in der Mitte farblos mit tief violettem, in feine Strahlen ausgehenden Rändern. Tiefen-Kolonien von 2—4 Tagen haben einen Durchmesser von 1,3—2,6 mm, sehen weißlich-gelb, gröber granuliert aus. Der Rand ist unregelmäßig, teilweise mit kurzen Fortsätzen versehen. Ältere Tiefenkolonien haben schmale violette Ringe in dem farblosen Bezirk der Verflüssigungszone, die von der Oberfläche aus ihren Anfang nimmt. Mikroskopisch (ca. 80fache Vergrößerung) erscheinen die Oberflächenkolonien von tiefvioletter Farbe mit unregelmäßig gelappter Umgrenzung. Die Tiefenkolonien zeigen im Zentrum braun-gelbe Massen mit schwach violetter Randzone, die nach außen hin wieder braun-gelbliche Färbung annimmt.

Gelatinestich: Nach 24 Stunden sehr geringes Wachstum, geringe Verflüssigung an der Oberfläche; im Stich feinkörnige Massen, nach 2—3 Tagen trichterförmige Verflüssigung, am unteren Ende des Stiches violette, darüber ungefarbte körnige Ablagerungen. Nach einer Woche hat die Verflüssigungszone sich im oberen Drittel rundkolbenähnlich ausgebuchtet; an der Oberfläche der Verflüssigung violette Häutchenbildung, im Stich feine, meist ungefarbte Flocken. Nach 2 Wochen vollständige Verflüssigung des Röhrcheninhaltes mit violetten Häutchen an der Oberfläche, sowie violettem Bodensatz. Nach längerer Zeit diffundiert der Farbstoff von der Oberfläche her nach unten hin.

Agarplatten: (Extrakt-Agar, Alkalität 0,05—0,06.) Wachstum langsamer und weniger ausgedehnt als auf Gelatine. Runde, schwach violett gefärbte, zuerst meist farblose Kolonien mit feuchter, schwach konvexer Oberfläche. 3-tägige Kolonien haben einen Durchmesser von etwa 1,0 mm und bestehen mikroskopisch betrachtet aus 3 Zonen. Die zentrale Zone erscheint bräunlich, grob granuliert; die mittlere ist violett, von flockigem Aussehen; die äußere Zone ist schmaler als die andere, gelblich gefärbt, homogen. Die 3 Zonen sind nicht scharf getrennt, sondern gehen ineinander über. Andere Kolonien sind durchweg violett gefärbt. 6 Tage alte Kolonien sind rund, von Durchmessern bis zu Linsengröße, leicht konvex, tiefviolett, feucht glänzend.

Agarstrich: Nach 24 Stunden geringes Wachstum im Impfstrich, feucht, schwach violett. Ältere Kulturen zeigen schwach gezähnte Ränder; die Farbe geht ins dunkelviolette bis schwarzviolette über. **Natursaurer Agar:** Farbstoffbildung vermehrt, feucht glänzend, schwach granuliert.

Loefflers Blutserum: Wachstum üppiger als auf Agar, feucht; Färbung ausgesprochen bläulich. Impfstrich zentral: dunkel, außen bläulich-weiß; der Farbstoff diffundiert in den Nährboden, nimmt einen blauvioletten Charakter an. Nach 1 Woche ist der Röhrcheninhalt ganz bläulich gefärbt, teilweise verflüssigt. Der verflüssigte Anteil zeigt violette Färbung.

Kartoffeln nach Globig: Sind ungeeignet, da kein Wachstum eintritt.

Milch: Geringe Farbstoffbildung, hauptsächlich in dem an der Oberfläche befindlichen Rahm; keine Säurebildung, keine Gerinnung.

Bouillon: Geringe Trübung nach 2—3 Tagen mit Bildung eines weißlichen Bodensatzes. In älteren Kulturen wird der Bodensatz erheblicher und nimmt violette Färbung an. Keine deutliche Häutchenbildung an der Oberfläche.

Peptonwasser 1 Proz.: Trübung, keine Häutchenbildung, keine Indolreaktion.

Traubenzucker-Bouillon: Wachstum ähnlich wie in Bouillon, keine Gasbildung.

Neutralrot-Agarstich: Langsames Wachstum, Bildung einer violetten Membran an der Oberfläche, keine Fluoreszenz.

Lackmusmolke: Zunahme der Blaufärbung nach 14 Tagen.

Lackmuszucker-Nutrose-Nährboden nach Hetsch:

Traubenzucker: Trübung, Rötung nach 2 Tagen, Gerinnung nach 1 Woche keine Gasbildung.

Malzzucker: Nach 2 Tagen schwache Rötung, Trübung, keine Gerinnung.

Mannit: Geringe Trübung, keine Rötung, keine Gerinnung.

Rohrzucker: Sehr geringe Trübung, keine Rötung, keine Gerinnung.

Milchzucker: Geringe Trübung, keine Rötung, keine Gerinnung.

Hämolytische Eigenschaften konnten auf Hammelblut- und Kalbsblutagarplatten nicht festgestellt werden.

Geringes anaerobes Wachstum findet auf mit Glimmer gegen die Luft abgeschlossenen Gelatineplatten statt. Die Kolonien bilden keinen Farbstoff und gleichen im allgemeinen den jungen Tiefenkolonien gewöhnlicher Gelatineplatten.

Wachstum auf Kaseinagar und Kaseingelatine ist gering; Farbstoffentwicklung vermindert; die Gelatine wird beim Wachstum kaum verflüssigt, sondern aufgezehrt.

Keine Indolbildung, keine H_2S -Reaktion.

Stamm Violaceus Hamburg II.

2,1–4,9 μ lang. Keine wesentlichen Abweichungen von Hamburg I bis auf Wachstum in Milch, die bei amphoterer Reaktion nach 14 Tagen gerinnt.

Stamm Violaceus Hamburg III.

1,4–3,5 μ lang. Kolonien auf Agar wenig scharf abgegrenzt gegen die Umgebung. Milch. Andeutung von Gerinnung bei amphoterer Reaktion nach 14 Tagen.

Stamm Violaceus Hamburg Kaltehofe I.

1,4–3,5 μ lang. Gelatineplattenkolonien von 2 Tagen erscheinen bei 85-facher Vergrößerung unregelmäßig gerandet, haben ein dunkelviolettes Zentrum, das von einer helleren violetten Zone umgeben wird.

Agarplattenkolonien von $\frac{1}{2}$ –2 mm Durchmesser zeigen keine deutliche Zonenbildung, haben einen schwach gelappten Rand. Der periphere Teil wird allmählich nach außen hin farblos. 6-tägige Agarkolonien sind in der Mitte tief violett gefärbt, fein granuliert, nach der Peripherie zu netzartig, von einer grauen Außenzone umgeben. Milch gerinnt nach 2–3 Wochen, Reaktion sauer. Auf Bouillon geringe Häutchenbildung (hellviolett), später starker violetter Bodensatz. In Lackmusrohrzuckernutrose nimmt die Blaufärbung später an Intensität zu. In Neutralrotagar schwach violettes Oberflächenwachstum, geringe Entfärbung. Später nimmt das Oberflächenwachstum bräunliche Färbung an.

Stamm Violaceus Hamburg Kaltehofe II.

1,4–3,5 μ lang. Gelatineplattenkolonien von 2 Tagen erscheinen bei durchfallendem Licht farblos, bei auffallendem Licht schwach violett. Ältere Kulturen zeigen deutlich Zonenbildung (konzentrische Ringe verschiedener Färbungsintensität), bei mikroskopischer Betrachtung erscheint die Zentralzone gelblich, granuliert, darum eine aus unregelmäßigen dunklen Farbflocken zusammengesetzte Zone, die von einer graugelblich, netzartig angeordneten, mit feinen Fortsätzen versehenen Zone umgeben wird. Agarplattenkolonien zeigen nach 2 Tagen hellviolette, später violette Färbung. Auf Schrägagar ist die Färbung intensiver. In Peptonbouillon starke Membranbildung von violetter Farbe. Milch gerinnt nach 14 Tagen, schwache Säurebildung. Bildung von Schwefelwismut in Wismutbouillon. In Lackmusmolke Zunahme der Blaufärbung und Membranbildung.

Stamm Violaceus Nidda.

2,1–5,6 μ lang, etwas dicker als Hamburg I. Tiefenkolonien auf Gelatineplatten zeigen bei mikroskopischer Betrachtung vom Rand aus unregelmäßige Fortsätze. 5-tägige Agarkolonien zeigen eine hellere violette zentrale Zone, eine tiefviolette mittlere Zone, eine farblose Außenzone. Durchmesser $\frac{1}{2}$ –3 mm. Bei mikroskopischer Betrachtung treten Falten und radiäre Streifung in Erscheinung. Schrägagarstrichkulturen sind dunkelviolet, leicht gekörnt. Milch zeigt nach 14 Tagen Gerinnung und Säurebildung. Lackmusmolke wird nicht verändert. Auf Neutralrotagar geringe Entfärbung des Nährbodens. Sehr geringe Schwefelwismutbildung in Wismutbouillon.

Stamm Violaceus München.

Schlanke dünne Stäbchen von 2,8–7,0 μ Durchmesser, Beweglichkeit nicht sehr erheblich. Nach Neisser gefärbte größere und kleinere Körnchen, letztere in der Mehrzahl. Gelatineplattenkulturen zeigen 2 Zonen: eine zentrale homogene tiefviolette, eine periphere, unregelmäßig berandete, gelblich-braun gekörnte Zone; Gelatinestich: auf der verflüssigten Gelatine Membranbildung. Schrägagarkulturen

9*

sind tiefviolett gefärbt, zackig gerandet. In Lackmusmolke nimmt Blaufärbung allmählich zu.

Stamm Violaceus London.

2,1—4,2 μ lang. 4-tägige Gelatineplattenkulturen erscheinen wie violette konkave Einsenkungen, im Zentrum dunkler als in der Peripherie. Bei 85-facher Vergrößerung erscheint die zentrale Zone noch aus einer mittleren, helleren violetten bestehend, die peripherische geht in eine grauweiße, netzartig angeordnete Zone über. Agarplattenkulturen von 3 Tagen sind im allgemeinen schwach violett gefärbt, doch auch hier von verschiedener Färbungsintensität, aus einer zentralen, schwach violetten körnigen und einer peripherischen struktur- und farblosen Zone bestehend. Agarschräggkulturen nehmen später dunklen Farbton an. Löfflers Serum zeigt violettes Wachstum, keine Verflüssigung. Milch gerinnt nach 14 Tagen bei amphoterer Reaktion. Auf Bouillon geringe bläulich-weiße Membranbildung. Neutralrot-agar wird entfärbt, zeigt aber keine Fluoreszenz. In Lackmusmolke nimmt Blaufärbung allmählich zu.

Stamm Violaceus Bremen.

2,1—4,2 μ lang. Nach Neisser gefärbt kleinere Körnchen als Hamburg I. Drei Tage alte Gelatineplattenkolonien zeigen verschiedene Durchmesser und bestehen aus einer strukturlos erscheinenden, tiefvioletten zentralen Zone, die von einer grobgekörnten, radiär angeordneten mittleren Zone umgeben wird. Die Außenzone ist ist schmal, grau, fein granuliert. 4 Tage alte Agarplattenkolonien zeigen ebenfalls verschiedene Durchmesser, sind tiefviolett, konvex rund, feucht. Agarstrichkulturen zeigen später feine violette Fortsätze. Löfflers Serum wird blau gefärbt, Verflüssigung findet nicht statt. Auf natursauem Agar ist die Färbung tief dunkelviolett, fast schwarz. Milch nach 14 Tagen geronnen. Reaktion amphoter. Auf Bouillon schwache, hellviolette Membranbildung. Lackmusmolke wird nicht verändert.

Stamm Violaceus Breslau I.

2,8—5,6 μ lang. Nach Neisser gefärbt, erscheinen die Körnchen kleiner als bei Hamburg I. Gelatineplattenkolonien sind nach 3 Tagen 0,75—1,52 mm groß; zeigen eine farblos oder sehr schwachviolette, granuliert zentrale Zone. Diese wird von einer tiefvioletten mittleren Zone umgeben; die Außenzone ist graulich-weiß. Gelatinestich zeigt nach mehrtägiger Bebrütung rundkolbenförmige Verflüssigung. 4-tägige Agarkolonien zeigen eine hellviolette zentrale, eine dunkelviolette mittlere Zone. Die schmale Außenzone ist grauweißlich. Auf natursauem Agar ist die Färbung tief dunkelviolett. Löfflers Serum wird blauviolett gefärbt und gering verflüssigt. Milch gerinnt nach 14 Tagen bei amphoterer Reaktion. Mannit-nutrose zeigt nach längerer Kultur Zunahme der blauen Färbung. Lackmusmolke wird nicht verändert.

Stamm Violaceus Breslau II.

2,5—5,5 μ lang. Gelatineplattenkolonien sind scharfrandig, zeigen eine innere, hellviolette, fein granuliert und eine äußere tiefviolette Zone. Agarkolonien von 2 Tagen sind farblos oder sehr schwachviolett, fein granuliert, unregelmäßig berandet mit feinen Fortsätzen. Nach 4 Tagen erscheinen sie rund, feucht, violett und fein granuliert im Zentrum. Die schmale Außenzone ist farblos. Auf natursauem Agar tief dunkel violett. Auf Löfflers Serum zuerst bläulich-weiß, später tiefviolettes Wachstum, geringe Verflüssigung. In Milch nach 14 Tagen Gerinnung bei amphoterer Reaktion. In Bouillon keine Membranbildung. In Malzzucker-lackmusnutrose sehr geringe Säurebildung, schwache Membran an der Oberfläche. In Mannitlackmusnutrose und Rohrzuckerlackmusnutrose nimmt nach längerer Bebrütung die Blaufärbung zu. In Wismutbouillon Bildung von Schwefelwismut. Lackmusmolke wird nicht verändert.

Stamm Violaceus Breslau III.

2,5—4 μ lang. 2-tägige Gelatinekolonien erscheinen bei auffallendem Lichte als violette Punkte, bei durchfallendem Licht farblos, luftblasenähnlich. Nach 3 Tagen: violette Punkte in einer kleinen Verflüssigungszone, aus einer zentralen, sehr hellvioletten, fein gekörnten, einer mittleren tiefer violetten, ringförmigen Zone, einer peripherischen hellvioletten Zone bestehend. 4 Tage alte Agarkolonien haben einen Durchmesser von $\frac{1}{8}$ —3 mm. Im Zentrum befindet sich eine granuliert, violette, unregelmäßig angeordnete, nach außen hin ausstrahlende Masse, die nach der Peripherie hin heller wird und in der Außenzone hellgrau ist. Löfflers Serum wird violett tingiert und schwach verflüssigt. Milch gerinnt nach 14 Tagen bei amphoterer Reaktion. In Bouillon keine Membranbildung. In Mannit- und Rohrzucker-

lackmusnutrose nimmt die Blaufärbung allmählich zu. In Wismutbouillon Ausscheidung von Schwefelwismut. Lackmusmolke zeigt keine Aenderung.

Stamm *Violaceus* Breslau IV.

2,8—7,0 μ lang. 2-tägige Gelatinekolonien erscheinen gelblich im Zentrum, dunkler in der Peripherie, schichtartig. Nach einer Woche erscheinen sie dunkelviolet mit einer kleinen Verflüssigungszone. Einige schwimmen membranartig auf der schwachviolett gefärbten verflüssigten Gelatine. Die Kolonien haben eine tiefviolette, scharfbegrenzte zentrale Zone, die von einer hellvioletten, unregelmäßigen, netzartigen angeordneten Zone, die farblose Fortsätze in die Peripherie sendet, umgeben ist. 3-tägige Agarkolonien haben ein dunkleres, granuliertes Zentrum, das nach der Peripherie hin radiär ausstrahlt. Die Außenzone ist grau gefärbt. Agarstrichkulturen zeigen nach 2—3 Wochen gezähnte Ränder. Löfflers Serum zeigt hellviolett Wachstum, nach längerer Bebrütung tritt schwache Verflüssigung und Blauviolett färbung des Nährbodens ein. Milch gerinnt nach 14 Tagen bei amphoterer Reaktion. In Mannit- und Rohrzuckerlackmusnutrose nimmt die Blaufärbung allmählich zu. Neutralrot und Lackmusmolke wird nicht verändert.

Stamm *Violaceus* Berlin.

2,1—5,6 μ lang. 5-tägige Gelatinekolonien sind rund, konkav eingezogen, schwach violett gefärbt, in einer schmalen Verflüssigungszone. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen die Kolonien schichtartig, die zentrale Zone ist gelblich, die mittlere Zone dunkler violett granuliert. Die Außenzone zeigt eine gelbliche Farbe, die Granula sind radiär angeordnet. 2-tägige Agarkulturen sind $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{3}$ mm groß, grauweiß mit einem sehr hellvioletten Zentrum. Nach 5 Tagen wird die Färbung dunkler, die zentrale Zone bleibt jedoch hell. Die mittlere Zone ist dunkelviolet mit teilweiser radiärer Anordnung des Farbstoffes, der sich haarförmig in die graue Außenzone fortsetzt. Auf Schrägagar ist die Kultur anfangs hellviolett, später tief dunkelviolet mit haarförmigen Fortsätzen. Auf Löfflers Serum ist das Wachstum tief dunkelviolet bis schwarz, an der Oberfläche in der Mitte weißlich mit haarförmigen dunklen Fortsätzen. Der Farbstoff durchdringt den Nährboden, der verflüssigt wird. Milch gerinnt nach 14 Tagen bei amphoterer Reaktion. Auf Malzzuckerlackmusnutrose keine Farbveränderung. Auf Neutralrot hellviolett Oberflächenwachstum. Auf Peptonbouillon sehr geringe hellviolette Membranbildung. Lackmusmolke wird nicht verändert.

Stamm *Violaceus* Alfeld.

1,4—5,0 μ lang. Nach Neisser 2 bzw. 3 Minuten gefärbt, erscheint der Bakterienleib nicht homogen gefärbt. Die blauen Körperchen, meist endständig, scheinen größer als die Breite des Bakteriums, sie verleihen ihm ein kolben- und hantelförmiges Aussehen. Agarplatte: Kolonien wenig scharf abgegrenzt, schwache Farbstoffbildung. Agarstrich: Schwaches Wachstum, schwachviolette Färbung an den dickeren Stellen der Kultur, im übrigen weißlich. Später sehr feucht aussehendes Wachstum, zentrale schwachviolette Zone von etwas stärker violettem Streifen umschlossen, der wieder in schwach violettes, wenig abgegrenztes Wachstum mit fädigen Fortsätzen übergeht. Milch: Aufhellung (Peptonisierung), schwach alkalische Reaktion. In Mannit-, Rohr- und Milchezuckerlackmusnutrose nach 10 Tagen mehr Blaufärbung als in der Kontrolle. Lackmusmolke zeigt keine Veränderung.

Stamm *Violaceus* Vienenburg.

2,5—5,0 μ lang. Nach Neisser gefärbt zahlreiche Körnchen an Durchmesser meist die Bakterienbreite übertreffend. 2-tägige Gelatineplattenkulturen erscheinen bei auffallendem Licht als feine weiße Pünktchen von $\frac{1}{12}$ — $\frac{1}{6}$ mm Durchmesser; bei durchfallendem Licht sind sie farblos. Bei 85-facher Vergrößerung erscheinen sie als runde fein granuliert gelbliche Massen. 3-tägige Oberflächenkolonien erscheinen bei auffallendem Licht sehr schwachviolett gefärbt, haben einen Durchmesser von $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{3}$ mm. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen sie gelblich, unregelmäßig berandet. Tiefenkolonien sind rundlich, kleiner als Oberflächenkulturen, von ähnlicher Struktur. Gelatinestich zeigt nach einiger Zeit gelblich-weiße Membranbildung an der Oberfläche mit weißlichem Bodensatz in der Verflüssigung.

2-tägige Agarplattenkolonien sind feucht, rund $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{8}$ mm im Durchmesser von grauer ins violette übergehender Farbe, rundlich oder avals. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen sie fein gekörnt, grau-gelblich im Zentrum, mit unregelmäßigen Randfortsätzen.

5-tägige Kulturen sind hellviolett oder weißlich. Bei mikroskopischer Betrachtung treten zahlreiche unregelmäßige Fortsätze in Erscheinung. Die Kulturen sind gekörnt, die Körnung hat radiären Charakter.

Agarschräggkulturen sind meist weißlich, hier und da hellviolett tingiert. Später erstreckt sich die Färbung über die ganze Kultur, etwas dunkler am unregelmäßig streifigen Rand als in der Mitte. Auf Löfflers Serum weißlich-violettes Wachstum. Später geringe Verflüssigung sowie braun-gelbliche Färbung der Kultur. In Milch Aufhellung (Peptonisierung) bei alkalischer Reaktion. In Peptonbouillon sehr geringe Membranbildung mit weißlichem Bodensatz. In Mannit-, Rohr- und Milchzuckerlackmusnutrose nimmt nach 10 Tagen die Blaufärbung zu. In Lackmusmolke tritt Blaufärbung nach 14 Tagen auf.

Stamm *Violaceus* Göttingen.

2,1–4,2 μ lang. 2-tägige Gelatineoberflächenkolonien sind sehr klein ($\frac{1}{6}$ mm im Durchmesser), erscheinen als weißliche Punkte. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen sie gelblich, unregelmäßig rundlich. Tiefenkolonien sind kleiner, granuliert, schieben unregelmäßige Fortsätze in die Umgebung vor. 3-tägige Oberflächenkolonien sind weißlichgelb, haben ein fein granuliertes gelbliches Zentrum, darum herum eine etwas dunklere (nicht violette) schichtartig zusammengesetzte Zone, die Außenzone ist verflüssigt. 4-tägige Kolonien erreichen einen Durchmesser von nur 2 mm. Sie haben ein unregelmäßig radiär gestaltetes, gröber granuliertes Zentrum, welches etwas dunkler gelblich als die Peripherie ist. Gelatinestich zeigt anfangs sehr geringe Verflüssigung, später weißliche Membranbildung an der Oberfläche. Agarkulturen von 2 Tagen erscheinen als farblose kleine Tröpfchen bis zu $\frac{1}{6}$ im Durchmesser, unregelmäßig berandet, fein granuliert mit gehaartem Rand, später erscheinen sie als feuchte, konvex-erhabene weißliche Kolonien, die mikroskopisch betrachtet aus gelblichen Körnchen bestehen. Agarschräggkulturen bleiben ohne Farbstoffbildung, die Ränder sind mit feinen haarförmigen Fortsätzen versehen. Natursaurer Agar zeigt ebenfalls keine Farbstoffbildung. Löfflers Serum zeigt feuchtes, weißes, farbstoffloses Wachstum, gezähnte Ränder, geringe Verflüssigung nach 2–3 Wochen. Milch hellt sich nach 14 Tagen auf bei schwach alkalischer Reaktion. Mannit-, Rohr- und Milchzuckerlackmusnutrose zeigen Zunahme der Blaufärbung. Neutralrot wird nicht verändert. Lackmusmolke wird blau nach 14 Tagen.

Stamm *Violaceus* Diffusus Aitay.

2,1–3,5 μ lang. Nach Neisser gefärbt: kleinere und weniger zahlreiche Körnchen als in Hamburg I. 2-tägige Gelatinekolonien erscheinen bei auffallendem Licht als kleine hellviolette, bei durchfallendem Licht als farblose luftblasenartige Gebilde bis zu $\frac{1}{6}$ mm Durchmesser. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen sie unregelmäßig berandet. Die mittlere fein granuliert Zone ist violett tingiert. 3-tägige Kulturen zeigen eine unregelmäßig begrenzte, bräunlich-violette zentrale Zone, die in der Mitte etwas hellviolett, am Rande granuliert ist. 3-tägige Kulturen erscheinen als unregelmäßig rundliche, gekörnte, tiefviolette Massen mit konkav eingezogener Oberfläche; bei mikroskopischer Betrachtung scheinen sie aus einer bräunlich-violetten zentralen, aus einer tiefvioletten mittleren in ihrer auf Partien gekörnten, und einer schmalen, bräunlich-gelblichen, netzartig angeordneten peripherischen Zone zu bestehen. Durchmesser 2–3 mm. Die Tiefenkolonien sind durchweg kleiner als die Oberflächenkolonien. Farbstoffbildung tritt erst in älteren Tiefenkolonien auf. Gelatinestrich zeigt in mehrtägiger Kultur violette Membranbildung auf der verflüssigten Gelatine, weißliche sowie violette Flockenbildung am Boden. Agarkolonien von 24 Stunden erscheinen unscharf abgegrenzte, fein granuliert, rundlich oder ovalär. 5-tägige Kulturen sind dunkelviolett abgegrenzt. Bei mikroskopischer Betrachtung ergeben sie sich aus einer größeren zentralen, violetten, gekörnten, unregelmäßig radiär angeordneten Zone und einer äußeren, farblosen fein granulierten Zone bestehend. Auf Schrägagar anfangs weißliches später violettes Wachstum. Auf Löfflers Serum bläulich-weißes Wachstum, später geringe Verflüssigung. In Milch Aufhellung (Peptonisierung) bei alkalischer Reaktion. In Mannit-, Rohrzucker- und Milchzuckerlackmusnutrose Zunahme der Blaufärbung. In Lackmusmolke keine Aenderung.

Die morphologischen, tinktoriellen und kulturellen Unterschiede der von uns untersuchten 18 *Violaceus*-Stämme sind demnach, abgesehen von der vollständig mangelnden bzw. geringeren Farbstoffbildung der Stämme Göttingen, Vienenburg, Aitay und Alfeld, nicht sehr erheblich und treten hauptsächlich im Wachstum auf Gelatineplatten hervor. Geringere Unterschiede ergaben sich teilweise auf Agarplatten, im Gelatinestich, Neutralrotagar, in Milch und einigen Lackmuszucker-Nutrose-nährböden; sowie in Pepton- und Wismutpeptonbouillon.

Vergleichen wir nun unsere Befunde mit den in der Literatur festgelegten Eigenschaften der *Violaceus*-Bakterien, so fällt in erster Linie die Angabe über Gram-Färbbarkeit auf; verschiedene Autoren, darunter auch Lehmann und Neumann, fanden Färbbarkeit nach Gram, wir konnten in keinem Fall grampositive *Violaceus*-Stämme nachweisen. Auch wenn wir statt des Acetonalkohols gewöhnlichen Alkohol zum Auswaschen benutzten, blieben die *Violaceus*-Stäbchen gramnegativ. Auch Sporenbildung konnten wir weder färberisch, noch, wie weiter unten mitgeteilt wird, auf Grund der Resistenzprüfung feststellen. Die Angabe über Sporen mag auf einer Mißdeutung der nach Neisser färbbaren Körperchen beruhen. Weiterhin ist das Wachstum sämtlicher untersuchten Stämme auf Kartoffeln negativ gewesen. Es liegt daher die Möglichkeit vor, daß die Autoren, die über Farbstoffbildung auf Kartoffeln berichten, den *Violaceus*-Bakterien nahestehende, jedoch, wie wir auf Grund unserer weiter unten mitgeteilten Befunde annehmen, in die Gruppe des *Membranaceus amethystinus* gehörige Bakterien in der Hand gehabt haben. Auch Indolbildung, Gasproduktion in Traubenzuckernährboden konnten wir bei unseren Stämmen nicht finden. Die Schwefelwasserstoffreaktion prüften wir, indem wir angefeuchtetes Bleipapier im Kulturröhrchen oberhalb der Kulturflüssigkeit aufhängten. Wir konnten in keinem Fall H_2S -Bildung feststellen. Nach einer neuen Methode¹⁾, die in Zusatz von Wismutsubnitrat zur Peptonbouillon besteht, fanden wir Bildung von Schwefelwismut nur bei den Stämmen Nidda, Breslau II und III und Kaltehofe II.

Bacillus membranaceus amethystinus Stamm I.

Mikroskopisches Aussehen. (24 Stunden Agarkultur.) 1,4–3,5 μ langes Stäbchen mit abgerundeten Enden, in der Mitte etwas dicker als an den Enden, bildet kurze Fäden.

Beweglichkeit. Lebhaft beweglich, beweglicher als *Violaceus*, rotierend, vibrierend. Geißeln 4–5 peritrich, 1–2 polar.

Färbbarkeit. Nach Grams Methode negativ, Färbung meist nicht homogen. Andeutung von Körnchen, die nach Neisser, etwas länger als Diphtherie gefärbt, in dem braungefärbten Bakterienleib etwas kleiner als dieser als blaugefärbte kleine Körperchen meist endständig, manchmal mittelständig gelegen, weniger zahlreich als bei den *Violaceus*-Stämmen, deutlich hervortreten. Sporen nicht vorhanden; die Stäbchen sind nicht säurefest.

Wachstum. Langsam, am besten bei Zimmertemperatur, bei 37° findet kein Wachstum statt, bei Eisschranktemperatur gutes Wachstum.

Gelatineplatte. (Alkalität 0,054–0,058 Proz.) Nach 24 Stunden sehr kleine blauweiße Pünktchen. Nach 3 Tagen haben die Oberflächenkolonien das Aussehen leicht konvexer bläulich-weißer unregelmäßig berandeter, leicht gekörnter Membranen angenommen. Die Tiefenkolonien sind viel kleiner, rundlich, bläulich-weiß. Bei etwa 85-facher Vergrößerung zeigen sich die Oberflächenkolonien grauweiß, unregelmäßig berandet, mit einer kleinen leicht gelblichen runden Zentralzone, die nach außen in eine breitere, unregelmäßig netzartig gekörnte Zone übergeht. Andere Oberflächenkolonien zeigen nicht membranartiges Wachstum, sind kleiner, rund, konvex, feucht, bläulich-weiß. Nach einer Woche erreichen die *Membranaceus*-Kolonien einen Durchmesser bis zu etwa 5 mm; der unregelmäßig gezackte Rand und die Außenzone sind bei einigen hell-violett. Das Zentrum ist opak weiß-gelblich. Verflüssigung der Gelatine findet noch nicht statt.

Gelatinestich. Bis zu 48 Stunden weißliches Wachstum an der Oberfläche in der Umgebung des Impfstiches, keine Verflüssigung. Nach einer Woche dehnt sich das Wachstum bis zum Rand des Röhrchens aus und nimmt eine schwachviolette Färbung an. Später tritt trichterförmige geringe Verflüssigung auf. Die Membran kriecht am Reagenzglas empor, zeigt Fältelung und leichtviolette Färbung, sie haftet der schwach verflüssigten Gelatine so fest an, daß sie beim Umkehren des Reagenzglases nicht abreißt. Nach noch längerem Wachstum nimmt die Membran tiefer violette

1) Darling, Amer. Journ. of Public Health. New York 1913. p. 233.

Färbung an; am Grunde der nunmehr stärker verflüssigten Gelatine, die einen bräunlichen Farbton angenommen hat, liegt violett gefärbter Bodensatz.

Agarplatten. (Extraktagar Alkalität 0,05—0,08.) Das Wachstum auf Agar ist langsamer als auf Gelatine. Dreitägige Kolonien sind klein, rundlich konvex, von

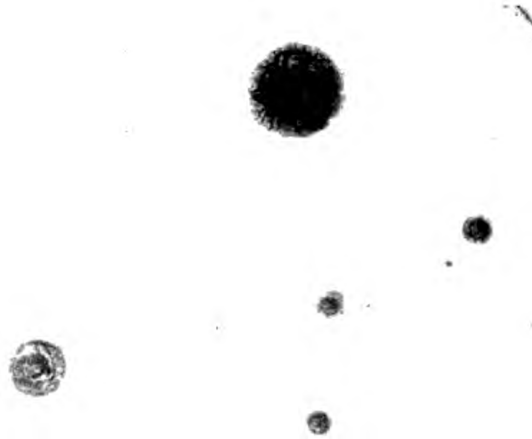


Fig. 1. Photogramm natürlicher Größe. 14-tägige Gelatineplatte Membran. III.

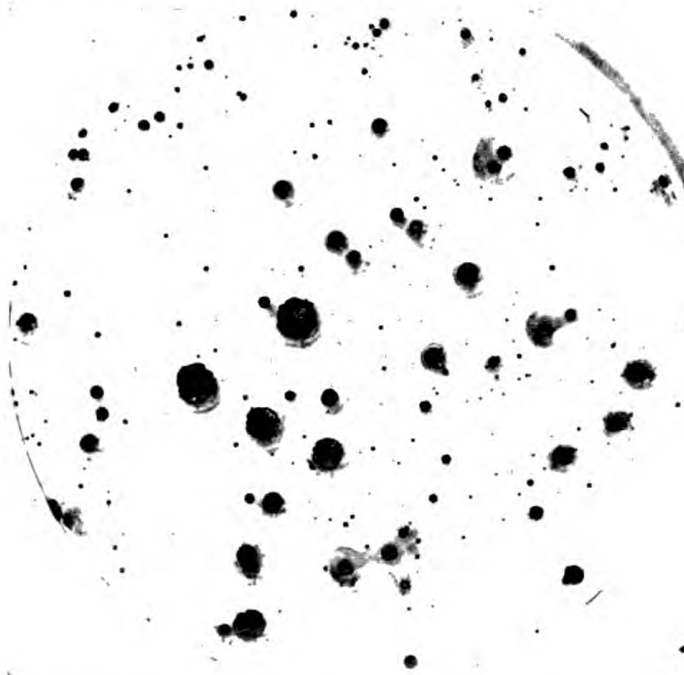


Fig. 2. Photogramm natürlicher Größe. 6-tägige Gelatineplatte Membran. IV.

gelblich-weißer Farbe und feuchter Oberfläche, bei 85-facher Vergrößerung sieht man im Zentrum eine gelblich-braune fein granuliert, in Fäden nach der Peripherie ausstrahlende Zone. Nach 8 Tagen haben die Kolonien verschieden große Durchmesser, die kleineren sind weißlich oder sehr schwachviolett, die größeren von violetter Farbe, rundlich, mit unregelmäßiger Berandung. Sie bestehen aus drei Zonen, die zentrale,

schwachviolett gefärbte wird von der mittleren Zone in Form eines tiefvioletten Bandes eingeschlossen, von dem aus radiär feine violette Streifen in die äußere mehr gelbliche Zone übergehen.

Agarstrich. Nach 24 Stunden ziemlich reichliches membranartiges Wachstum von weißlicher Farbe, nach 48 Stunden stärkeres Wachstum an der Randzone. Nach einer Woche nimmt die Kultur schwachgelbliche Farbe an, am unteren Ende zeigen sich Spuren violetter Färbung. Die Kultur ist feinkörnig. Auf natursauem Agar ist das Wachstum feucht, leicht erhaben, violett. Färbung am Rand tiefer violett als in der Mitte, später wird die Färbung gleichmäßig tief.

Löfflers Blutserum. Wachstum schneller als auf Agar. Nach 24 Stunden sehr schwach violettblaue Färbung, der Rand der erhabenen Kultur erscheint gezähnt. Nach 3 Tagen beginnt schwache Verflüssigung, Diffusion des Farbstoffes in den Nährboden sehr gering.

Kartoffeln nach Globig. Nach 24 Stunden reichliches membranartiges erhabenes, feuchtes Wachstum von bräunlicher sehr schwachvioletter Färbung und granulierter Oberfläche.

Milch. Keine Gerinnung. Nach 2—3 Wochen teilweise Aufhellung (Peptonisierung). Violette Membranbildung an der Oberfläche. Reaktion schwach alkalisch.

Bouillon. Nach einigen Tagen Trübung mit weißlichem Bodensatz und dünner sehr schwachvioletter Membranbildung an der Oberfläche. Später wird die Membran dicker, brüchig und sinkt zu Boden.

Traubenzuckerbouillon wie vor, keine Indolbildung.

Peptonwasser wie vor, keine Indolbildung.

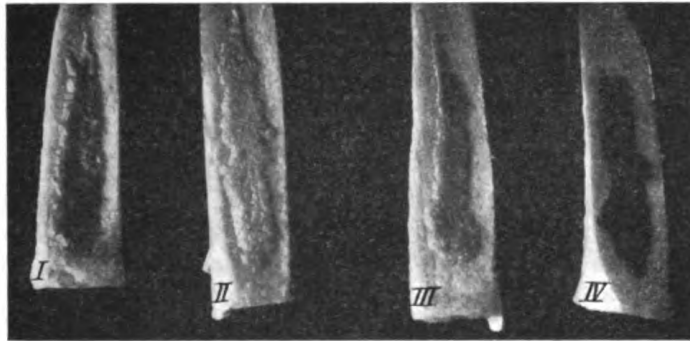


Fig. 3. Photogramm natürlicher Größe von *Membranaceus*-Kartoffelkulturen.

Neutralrotagarstrich. Langsames Wachstum mit Bildung einer anfangs weißen, später braunen Membran an der Oberfläche und Entfärbung des Nährbodens.

Lackmuskuckernutrose-Nährboden nach Hetsch.

Traubenzucker. Keine Gasbildung, anfangs Rotfärbung, nach einer Woche Trübung mit violettweißem Bodensatz, Entfärbung des Nährbodens, schwachviolette Membranbildung der Oberfläche.

Malzzucker. Geringe Rotfärbung des Nährbodens mit Trübung und weißlichem Bodensatz. Später Entfärbung, schwachviolette Membranbildung.

Mannit. Sehr geringe Rotfärbung mit leichter Trübung, später wie Malzzucker.

Rohrzucker. Wie Mannit, Membran bläulich-weiß.

Milchzucker. Anfangs keine Veränderung des Nährbodens, später leichte Trübung mit weißem Bodensatz. In älterer Kultur schwache Blaufärbung mit Membranbildung.

Hämolytische Eigenschaften. Negativ auf Hammel- und Kalbsblutagarplatten.

Anaërobes Wachstum gering auf mit Glimmer abgeschlossenen Gelatineplatten. Keine Farbstoffbildung.

Kasein-Agar und -Gelatine. Langsames Wachstum, verminderte Farbstoffbildung. Mit Bleipapier sowie in Wismutbouillon keine H_2S -Bildung nachweisbar. Lackmuskolke wird blau mit Membranbildung, später entfärbt sich der Nährboden.

Abweichende Eigenschaften der anderen *Membranaceus*-Stämme.

Membranaceus amethystinus Stamm II. 6-tägige Gelatineoberflächenkolonien sind schwachviolett gefärbt, konkav eingesunken bis auf den Boden der

Petri-Schale, die Mitte bildet ein kleiner violettgefärbter Punkt, dessen Umgebung ungefärbt ist. Die Außenzone ist wiederum violett.

Agarstichkultur zeigt anfangs grauweißes, später violettes Wachstum. Die Färbung des unregelmäßigen Randes ist tiefer als die der Mitte.

Löfflers Blutserum: Keine Verflüssigung, weißlich-violettes Wachstum.

Membranaceus amethystinus Stamm III¹⁾. 14-tägige Oberflächenkolonien auf Gelatineplatten sind violett, gefaltet, membranartig, unregelmäßig berandet, rundlich konkav eingesunken bis auf den Boden der Petri-Schale. Die Gelatine ist zum Aufbau der Membran verbraucht. Wenn die weißgelblichen Tiefenkolonien die Oberfläche erreichen, nehmen sie im Zentrum hellviolette, in der Mittelzone dunkelviolette Färbung an. Die Gelatine ist schwach verflüssigt. 3-tägige Agarkulturen zeigen eine schwach konvexe, feuchte Oberfläche und bestehen nur aus einer Zone.

Löfflers Serum: Sehr feuchtes, bläulich-weißes Wachstum. Keine Färbung des Nährbodens.

Auf Kartoffel: gelblichbraune Membran, granuliert, teilweise trocken.

Membranaceus amethystinus Stamm IV¹⁾. Nach Neisser gefärbt. Endständige Körnchen etwas zahlreicher als bei Stamm I.

Auf Gelatineplatten erscheinen die Kolonien als kleine bläuliche Punkte, luftblasenähnlich. Oberflächenkulturen erscheinen nach 72 Stunden bläulich-weiß membranartig, 1,4 mm im Durchmesser, nach 14 Tagen Färbung tief dunkelviolett, beinahe schwarz, sehr geringe Verflüssigung.

Gelatinestich, schwachviolettes Wachstum nach 24 Stunden, später wird die Membran tief dunkelviolett, Verflüssigungszone nimmt dunkelviolette Färbung an, am Ende des Stiches dunkelvioletter Bodensatz. In der Mitte des Stiches feine bräunliche Flocken.

Lackmuszuckernutrose-Nährboden nach Hetsch.

Traubenzucker: Sehr schwache Rotfärbung, violette Membranbildung.

Malzzucker: Sehr schwache Rotfärbung, violette Membranbildung.

Mannit: Nährbodenfarbe nicht verändert.

Auf sämtlichen anderen untersuchten Nährböden, auch auf Kartoffeln, starke tiefviolette bis schwarzviolette Farbstoffbildung, sowie Membranbildung.

Der *Bacillus membranaceus amethystinus* hat, abgesehen von seinem in älteren Kulturen auftretenden violetten Farbstoff, keine große Ähnlichkeit mit den *Violaceus*-Bakterien und, wie weiter unten dargelegt wird, ist sein serobiologisches Verhalten auch im allgemeinen ein anderes als das der *Violaceus*-Kulturen. Die vier von uns untersuchten *Membranaceus*-Stämme unterscheiden sich voneinander hauptsächlich in ihrem Wachstum auf Gelatineplatten, auf Kartoffel, sowie in dem Farbstoffbildungsvermögen.

In diesen Beziehungen ist der Stamm IV besonders interessant, denn sein Farbstoff ist sehr intensiv und wird auf allen Nährböden insbesondere auch in der Kartoffelkultur in recht erheblicher Weise gebildet, was uns zu der weiter oben schon angedeuteten Annahme veranlaßt hat, den Autoren, die über Farbstoffbildung des *Violaceus* auf Kartoffel berichtet haben, hätten vielleicht *Membranaceus*-Bacillen ähnlicher Art vorgelegen.

Die Eigenschaften der *Violaceus*- und *Membranaceus*-Stämme sind in Tabelle I zusammengestellt.

Die widersprechenden Angaben in der Literatur über das Bildungsvermögen von Sporen veranlaßten uns, abgesehen von Färbungsversuchen, die, wie schon erwähnt, negativ ausgefallen sind, Resistenzprüfungen gegen Temperaturerhöhungen anzustellen, indem wir annähernd gleiche Mengen der Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert in sterilen Reagensröhrchen im Wasserbade den verschiedenen in Frage kommenden Temperaturen aussetzten.

Wir suspendierten 5 Oesen einer 3-tägigen Agarkultur der zu prüfenden Stämme in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung und nahmen

1) Auf der Tafel und den Figuren sind einige Abbildungen von *Membranaceus*-Kulturen angegeben.

Tabelle I.
Morphologische und kulturelle etc. Eigenschaften der Violaceus- und Membranaceus-Stämme.

Name	Größe in μ	Gelbheit	Bewegung	Färbbarkeit nach Gram	Sporenbildung	Aërobes u. anaërobes Wachstum		Ver- flüssigung von		Bouillon- kultur		Milchkultur		Kartoffeln	Farbstoffbildg. auf d. Agarstrichkultur	Indolreaktion	H_2S	Gasentwicklung in Trauben Zucker- bouillon	Hetsch					Lackmuskulke	Fluoreszenz
						aërob	anaërob	Gelatine	Loeffler- Serum	Häuten	Trübung	Gerinnung	Reaktion						Trauben Zucker	Malz Zucker	Rohr Zucker	Milch Zucker	Mannit Zucker		
1) Viol. Hamburg I	2,1-4,2	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	amphoter	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
2) " " II	2,1-4,9	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
3) " " III	2,1-4,9	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
4) " " Nidda	2,1-5,6	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
5) " " Berlin	2,1-5,6	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	amphoter	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
6) " " Ahlfeld	1,4-4,0	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
7) " " Göttingen	2,8-4,9	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
8) " " Vienenburg	2,8-4,9	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
9) " " Aitay diffus.	2,1-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
10) " " Breslau I	2,8-7,0	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	amphoter	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
11) " " II	2,8-5,6	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
12) " " III	2,8-4,9	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
13) " " IV	2,8-7,0	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
14) " " Bremen	2,1-4,2	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
15) " " London	2,1-4,2	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
16) " " Kaltehofe I	1,4-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
17) " " II	2,1-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
18) " " München	2,8-7,0	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	amphoter	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
19) " " memb. A I	2,1-2,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
20) " " II	1,4-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
21) " " III	1,4-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
22) " " IV	1,4-3,5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	" "	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—

P = Peptonisation

+ — = wenig sauer
 + = sauer
 n = normal
 — = alkalisch

} für Hetsch und
 } Milchreaktion

von dieser Mischung je 5 ccm für die Resistenzprüfung; nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung wurde der Inhalt der Röhrchen mittels Pipette gut durchmischt und mit 1 ccm Gelatineplatten, ebenso auch Kontrollplatten aus den nicht behandelten Proben angesetzt. Sämtliche Platten wurden bei 22° bebrütet und 10 Tage lang auf Wachstum beobachtet. Alle Stämme wuchsen nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Behandlung mit 35° ebenso zahlreich wie die Kontrollen aus. Bei $37\frac{1}{2}^{\circ}$ zeigte nur der Stamm München kein Wachstum. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalt im 40° -Wasserbad ergab sich bei den meisten *Violaceus*-Stämmen kein Wachstum, die anderen zeigten Wachstumshemmung bis zu 7 Tagen. Wurde die 40° -Behandlung 1 Stunde ausgedehnt, so wuchsen nur 3 *Violaceus*-Stämme, und zwar erst am 4. Tage aus, die anderen waren abgetötet; die *Membranaceus*-Stämme wuchsen aus. Bei $42\frac{1}{2}^{\circ}$ waren alle *Violaceus*-Stämme nach $\frac{1}{2}$ Stunde abgetötet, die *Membranaceus*-Stämme zeigten noch Wachstum bei $47\frac{1}{2}^{\circ}$. Erst bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung von 50° wuchsen auch diese nicht mehr aus. Aus diesen Befunden geht hervor, daß die untersuchten Stämme sehr wenig hitzebeständig sind und gegen erhöhte Temperaturen resistente Dauerformen nicht bilden. Die Einzelheiten sind in der Tabelle verzeichnet, in welcher + Wachstum, — Abtötung bedeutet. Die hinter dem + Zeichen befindlichen Zahlen bezeichnen die Tage, an welchen das Auswachsen zuerst beobachtet wurde.

Tabelle II.
Resistenz gegen Temperaturen.

Art der Stämme	35°	$37\frac{1}{2}^{\circ}$	40°	40°	$42\frac{1}{2}^{\circ}$	45°	$47\frac{1}{2}^{\circ}$	50°
Viol. Hamburg I	+	+	+ 2	+ 4	—	—	—	—
„ „ II	+	+	—	—	—	—	—	—
„ „ III	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Hamburg-Kaltehofe I	+	+	+ 4	—	—	—	—	—
„ „ II	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Nidda	+	+	+ 2	+ 4	—	—	—	—
„ München	+	—	—	—	—	—	—	—
„ London	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Bremen	+	+	+ 4	—	—	—	—	—
„ Breslau I	+	+	+ 7	—	—	—	—	—
„ „ II	+	+	+ 4	—	—	—	—	—
„ „ III	+	+	—	—	—	—	—	—
„ „ IV	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Berlin	+	+	+ 2	+ 4	—	—	—	—
„ Ahlfeld	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Vienenburg	+	+	—	—	—	—	—	—
„ Göttingen	+	+	—	—	—	—	—	—
„ diffusum Aitay	+	+	—	—	—	—	—	—
Membr. amethystinus I	+	+	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	—
„ „ II	+	+	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	—
„ „ III	+	+	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	—
„ „ IV	+	+	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	+ 2	—
Einwirkungszeit in Stunden	$\frac{1}{2}$ St.	$\frac{1}{2}$ St.	$\frac{1}{2}$ St.	1 St.	$\frac{1}{2}$ St.	$\frac{1}{2}$ St.	$\frac{1}{2}$ St.	$\frac{1}{2}$ St.

Ueber die Löslichkeit des Farbstoffes der *Violaceus*-Bacillen fanden wir in der Literatur nur die Angabe der Löslichkeit in Alkohol, dagegen Unlöslichkeit in anderen Lösungsmitteln. Um ein eigenes Urteil über die Lösungsfähigkeit in verschiedenen Lösungsmitteln zu gewinnen, prüften wir an 7-tägigen Agarkulturen die Löslichkeit in absolutem Alkohol, Aceton, Aether, Chloroform, Benzin, Toluol, Schwefelkohlenstoff, verdünnter Essigsäure, verdünnter Kalilauge, Wasser und Ammoniak.

Bei allen Stämmen mit Ausnahme des alten Laboratoriumsstammes Göttingen, der keinen Farbstoff produziert, erhielten wir in absolutem Alkohol komplette Lösung, am besten und tiefsten mit Aceton, das wir als ausgezeichnetes Lösungsmittel für bakterielle Farbstoffe empfehlen möchten, zumal man mittels Aceton auch aus flüssigen Kulturen die Farbstoffe leicht gewinnen kann, wenn man die Kulturflüssigkeit nach dem Acetonzusatz oder besser noch vor Zusatz des Acetons mit Kochsalz sättigt und dann im Scheidetrichter die Trennung vornimmt. In Aether erhielten wir kaum Löslichkeit, in Chloroform, Benzin, Toluol, Schwefelkohlenstoff keine Löslichkeit. In Essigsäure löst sich der Farbstoff kaum und bekommt einen bläulichen Ton, in Kalilauge ist die Löslichkeit ebenfalls sehr gering, die Lauge erscheint schwach rötlich, in Ammoniak wird der sich nur wenig lösende Farbstoff grünlich, in Wasser kommt nur eine Suspension zustande. Der in Aceton gelöste Farbstoff absorbiert in den von uns untersuchten Konzentrationen rotes, gelbes und grünes Licht, blaues und violettes Licht läßt er durch. Absorptionslinien fanden wir nicht.

Die Intensität der Farbstoffbildung der *Violaceus*-Stämme mit Ausnahme von Hamburg III und München prüften wir an gleichaltrigen Bouillonkulturen mittels Aceton nach vorherigen Kochsalzzusatz bis zur Sättigung. Als Vergleichslösung benutzten wir Methylviolett 0,01 g, in einem Liter Aceton gelöst, was wir 1–10-fach verdünnten und mit den in Aceton gelösten Kulturfarbstoffen verglichen. Das in Aceton gelöste Methylviolett hat allerdings nicht absolut die gleiche Farbschattierung wie die *Violaceus*-Farbstoffe, immerhin ist es aber so ähnlich, daß wir brauchbare Anhaltspunkte über die Farbintensität erhielten. Es entsprach die Farbstoffbildung der untersuchten Stämme folgenden Verdünnungen der $\frac{1}{10000}$ -Methylviolettacetonestammung.

Viol. Hamburg I	Viol. Hamburg II	Viol. Hamburg III	Viol. Hamburg, Kaltehofe I	Viol. Hamburg, Kaltehofe II	Viol. Nidda	Viol. München	Viol. London	Viol. Bremen	Viol. Breslau I	Viol. Breslau II	Viol. Breslau III	Viol. Breslau IV	Viol. Berlin	Viol. Ahlfeld	Viol. Vienenburg	Viol. Göttingen	Viol. diffusus Aitay
1	1		1	1 + 1	1 + 2		1 + 3	1	1	1 + 1	1 + 2	1 + 2	1 + 1	1 + 9	1 + 7	—	1 + 8

Wir glauben, daß die Abnahme der Farbstoffbildung mit der Zeitdauer der Züchtung auf künstlichen Nährböden im Laboratorium zusammenhängen kann, denn unsere frisch isolierten Stämme zeigen annähernd die gleich hohe Intensität, während der alte Laboratoriumsstamm Göttingen gar keine Farbstoffbildung zeigt, der vom Králschen Laboratorium bezogene *Diffusus Aitay*, der höchstwahrscheinlich auch ein älterer Laboratoriumsstamm ist, eine viel geringere Intensität ergibt. Von den anderen Stämmen ist uns leider der Zeitpunkt der Isolierung nicht bekannt.

Uebrigens wird auch die Intensität der Farbstoffbildung bei verschiedenen frisch isolierten Stämmen individuell verschieden sein können, was wir insbesondere auch bei unseren *Membranaceus*-Stämmen, die alle etwa gleichzeitig isoliert wurden, beobachteten. Diese bilden durchweg erst später Farbstoff als die *Violaceus*-Kulturen, und meist in viel geringerem Maße. Intensitätsvergleiche stellten wir nur zwischen dem *Violaceus*-Stamm Hamburg I und *Membranaceus* I an und

konnten dabei beobachten, daß Hamburg I in der Bouillon am 4. Tage nachweisbare Mengen Farbstoff bildete, Membranaceus I dagegen erst am 18. Tage. Am 25. Tage entsprach die Farbtintensität von Hamburg I einer Methylviolettacetatlösung 1:20 000, von Membranaceus I gleich 1:1 000 000.

Versuche, das Farbstoffbildungsvermögen bei einzelnen Stämmen, denen diese Eigenschaft verloren gegangen war, wieder anzuzüchten durch Zusatz von Magnesiumsulfat oder Nitriten, führten zu keinem Ergebnis; dagegen fanden wir die Farbstoffbildung besser auf natursauem Agar sowie bei Eisschranktemperatur (+ 6°).

Serologische Befunde.

Wir begannen mit der einfachsten serologischen Untersuchung, der Agglutination. Da wir uns nicht von sämtlichen 22 Stämmen Sera herstellen wollten, wählten wir von den Violaceus-Kulturen 6 Stämme möglichst verschiedener Herkunft und Eigenschaften aus, und zwar die Stämme Göttingen, Hamburg I, Breslau IV, London, Alfeld, Aitay; von

Tabelle
Agglutinations.

Serum	Göttingen							Hamburg I							Breslau IV						
	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
Kulturen																					
Viol. Ham-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
burg I																					
Viol. Ham-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
burg II																					
Viol. Ham-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
burg III																					
Viol. Hamb.,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kalthehofe I																					
Viol. Hamb.,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kalthehofe II																					
Viol. Nidda	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ München	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ London	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Bremen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Breslau I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ „ II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ „ III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ „ IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Berlin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Alfeld	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Vienen-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
burg																					
Viol. Göt-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tingen																					
Viol. diffus.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aitay																					
Membr.ame-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
thyst. I																					
Membr.ame-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
thyst. II																					
Membr.ame-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
thyst. III																					
Membr.ame-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
thyst. IV																					

+ Agglutination. +— Beeinflussung. — Keine Agglutination.

den Membranaceus-Stämmen benutzten wir nur Membranaceus I und agglutinierten mit den von Kaninchen durch wiederholte intravenöse Injektion abgetöteten Kulturen ($1\frac{1}{2}$ Stunde 56 °), gewonnenen Immuneris sämtliche 24 Stämme durch. Da eine Reihe von Normalseris unverdünnt oder wenig verdünnt unspezifische Agglutinationen verursachen, begannen wir die Agglutination in einer Verdünnung von 1:50 und führten sie bis 1:6400, bei welcher Verdünnung wir in keinem Falle mehr eine Agglutination erhielten, durch.

Die 18 *Violaceus*-Stämme zeigen, wie aus Tabelle III ersichtlich ist, wenn man die Agglutination allen 6 Seren gegenüber gemeinsam betrachtet, mehr oder weniger hohe Agglutination und somit mehr oder weniger enge Verwandtschaft. Das Serum Göttingen agglutinierte mit allen Stämmen, mit Ausnahme von Alfeld, das Serum Hamburg I zeigte mit Alfeld eine Andeutung von Agglutination; Breslau IV, London und Aitay agglutinierten mit sämtlichen *Violaceus*-Stämmen. Serum Alfeld agglutinierte nicht mit dem Stamm München, zeigte nur Andeutung mit Kaltehofe I, Breslau I—IV und Aitay. Diese Verschiedenheiten im Aggluti-

III.

Versuche.

[illegible]

nationstiter hängen sicherlich mit der verschiedenen Disposition der zur Serumherstellung benutzten Kaninchen, ebenfalls aber mit der leichteren oder schwereren Agglutinabilität der verschiedenen Stammarten zusammen.

Das Membranaceus-Serum zeigte mit sämtlichen Membranaceus-Stämmen einen hohen Agglutinationstiter, mit den Violaceus-Stämmen im allgemeinen keine Agglutination, nur mit den Stämmen Hamburg-Kaltehofe I und Breslau I Agglutination in Serumverdünnungen bis 1:100; ein Zeichen, daß gewisse Beziehungen biologischer Art zwischen Membranaceus und Violaceus bestehen.

Es erschien interessant, die Agglutination durch die Präzipitinreaktion zu kontrollieren. Es kamen die gleichen Sera zur Untersuchung. Wir prüften sie allerdings nicht mit Extrakten aller Violaceus- und Membranaceus-Stämme, sondern beschränkten uns auf die Extrakte der genannten 6 Violaceus-Stämme und des einen Membranaceus-Stammes.

Die Extrakte gewannen wir von 3-tägigen Agarkulturen bei 22°, die wir mit Kochsalzlösung abschwemmten, 2 Tage mit Zusatz von Chloroform der Autolyse überließen, alsdann noch einmal $\frac{1}{2}$ Stunde auf 45° (Membranaceus auf 50°) erhitzen, eine Stunde mit Seesand schüttelten, schließlich durch Papierfilter und dann durch Berkefeld-Filter filtrierten. Um möglichst gleichmäßige Extrakte zu erhalten, bestimmten wir den Gesamtstickstoff dieser nach Kjeldal und stellten die Extrakte so ein, daß wir rechnerisch einen Eiweißgehalt von 1:1000 erhielten.

Tabelle IV.
Präzipitationsversuche.

Sera 0,1 ccm konzentriert	Extrakte 1:1000 1,0 ccm						
	Göttingen	Hamburg I	Breslau IV	London	Alfeld	Aitay diff.	Membran. I
Hamburg I	+++	+++	++	+	0	0	0
Göttingen	+++	+++	++	+	0	0	0
Alfeld	0	0	0	0	++	0	0
Aitay diff.	0	0	0	0	0	+++	0
Breslau IV	+++	+++	++	+	0	0	0
London	++	++	+	++	0	0	0
Membran. I	0	0	0	0	0	0	+++

+++ Starke Präzipitierung. ++ Präzipitierung. + Schwache Präzipitierung. 0 Keine Präzipitierung.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ergaben die Sera bzw. Extrakte von Göttingen, Hamburg I, Breslau IV und London homologe und gegenseitige, Alfeld und Aitay nur mit den homologen Extrakten Präzipitation, ein Zeichen, daß die letzteren beiden Stämme den anderen Violaceus-Stämmen weniger nahe stehen. Den Extrakt Hamburg I titrierten wir mit dem Serum Hamburg I und Göttingen aus, wobei der Extrakt in Verdünnung von 1:10000 mit dem homologen Stammserum, mit dem Serum Göttingen in einer Verdünnung von 1:8000 präzipitierte. Membranaceus ergab nur mit dem homologen Serum Präzipitation.

Bei den Komplementbindungsversuchen, die nach der von Herrn Dr. Graetz in der serologischen Abteilung des Instituts angewendeten Methode angestellt wurden, benutzten wir als hämolytisches System 5 Proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung und den entsprechenden

Ambozeptor vom Titer 0,4 ccm 1:100, den Herrn Dr. Graetz aus seinen Beständen freundlichst zur Verfügung stellte.

Tabelle V.
Komplementbindungsversuche.

Serum: Art und Konzentration	Extrakte 1:10000 1,0—0,1 ccm						
	Göttingen	Hamburg I	Breslau IV	London	Alfeld	Aitay diff.	Membran. I
Hamburg I							
1:10 0,2 ccm	+++	+++	++θ	θ	θ	θ	θ
Göttingen							
1:10 0,2 ccm	+++	+++	++θ	θ	θ	θ	θ
Alfeld							
1:10 0,4 ccm	θ	θ	θ	θ	+++	θ	θ
Aitay diff. ¹⁾							
1:100 0,4 ccm	θ	θ	θ	θ	θ	+++	θ
Breslau IV							
1:10 1,0 ccm	+++	+++	++θ	++θ	θ	θ	θ
London							
1:10 0,4 ccm	+++	+++	++θ	+++	θ	θ	θ
Membran. I ¹⁾							
1:100 0,4 ccm	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+++

+++ Komplette Hemmung. ++θ Hemmung. θ Lösung.

Das Komplement gewannen wir von Meerschweinchen; es wurde sofort titriert und zwar ebenso wie in allen folgenden Versuchen in einer Gesamtmenge von 5 ccm Flüssigkeit. Alsdann wurde die Extraktprüfung vorgenommen, indem wir fallende Mengen Komplement (0,6—0,1 ccm 1:10) mit 1,0 ccm des Extraktes 1:10, also einem auf Grund der Kjehldal-Bestimmung rechnerisch ermittelten Eiweißgehalt von etwa 1:10000 entsprechend, prüften und 0,2—0,3 ccm mehr als die minimal-lösende Dosis zu den Hauptversuchen benutzten, im allgemeinen 0,5 ccm der Komplementverdünnung 1:10. Zur Serumkontrolle fügten wir ebenfalls fallende Mengen Komplement von 0,8—0,1 ccm 1:10 zu je 1,0 des 1:10 verdünnten inaktivierten Antiserums hinzu, um etwaigen Komplementverbrauch des Antiserums festzustellen, was jedoch bei unseren Versuchen nicht der Fall war. Zur Prüfung in welcher Dosis das Antiserum im Hauptversuch anzuwenden war, wurden gleiche Mengen Extrakt und zwar 1,0 ccm der Verdünnung 1:10000 (berechneter Eiweißgehalt) mit fallenden Mengen von Antiserum 1,0—0,1 ccm der Verdünnung 1:10 sowie gleichen Komplementmengen versetzt und für den Hauptversuch ungefähr die doppelte Menge der minimalhemmenden Dosis des Antiserums benutzt. Im Hauptversuch gelangten dann fallende Mengen Extrakt 1,0—0,1 ccm der Verdünnung 1:10000 (berechneter Eiweißgehalt) mit den durch die Vorversuche festgelegten Antiserum- und Komplementdosen zur Einwirkung und zwar ebenso wie in den Vorversuchen 25 Minuten im Wasserbad von 37°, worauf alsdann Ambozeptor und Hammelblutkörperchen hinzugefügt wurden und wiederum 1/2 Stunde im Wasserbade von 37° belassen wurde.

Die zur Reaktion gelangenden Sera verhielten sich bezüglich ihrer Bindung nicht gleichmäßig; so wurden Membranaceus I und Aitay in 100-facher Verdünnung, die anderen Sera in 10-facher Verdünnung, zu den Versuchen benutzt. Serum Göttingen, Hamburg I, Breslau IV und

1) Aus äußeren Gründen konnten Versuche mit konzentriertem Serum leider nicht mehr angestellt werden.

London gaben Bindung mit den homologen und heterologen Extrakten, Hamburg I und Göttingen jedoch nicht mit dem Extrakt London. Alfeld und Aitay sowie Membranaceus ergaben nur mit den homologen Extrakten Bindung.

Die Unterschiede in den verschiedenen serobiologischen Reaktionen sind nicht auffallend und auch schon von anderen Autoren für verschiedene pathogene Bakterien festgestellt. Sie sind auch uns ein Zeichen, daß die Agglutination zur Identifizierung in den meisten Fällen ausreicht, ja sogar recht empfindlich ist.

Schließlich konnten wir noch für den *Violaceus*-Stamm Hamburg I feststellen, daß er in Mengen von 1—2 Oesen Agarkulturen für Mäuse, Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen, subkutan bzw. intravenös gegeben, nicht toxisch ist und lebend intravenös eingespritzt, keine krankheitserregende Wirkung ausübt.

Schlußsätze.

Die *Violaceus*-Bakterien bilden, trotz morphologischer, tinktorieller und kultureller Verschiedenheiten, eine biologisch zusammengehörige Gruppe. Sie bilden keine Sporen und sind dementsprechend gegen Temperatureinflüsse sehr wenig resistent. Das Farbstoffbildungsvermögen ist bei den verschiedenen Stämmen recht verschieden.

Die *Membranaceus amethystinus*-Bakterien, die mit der *Violaceus*-Gruppe die Bildung eines violetten Farbstoffs gemeinsam haben, scheinen mit der *Violaceus*-Gruppe (Kaltehofe II, Breslau I) verwandt zu sein; ihre Resistenz gegen Temperatureinflüsse ist etwas höher, die Farbstoffbildung ist meist viel geringer und tritt viel später auf als bei der *Violaceus*-Gruppe.

Erklärung der Abbildungen auf der Tafel.

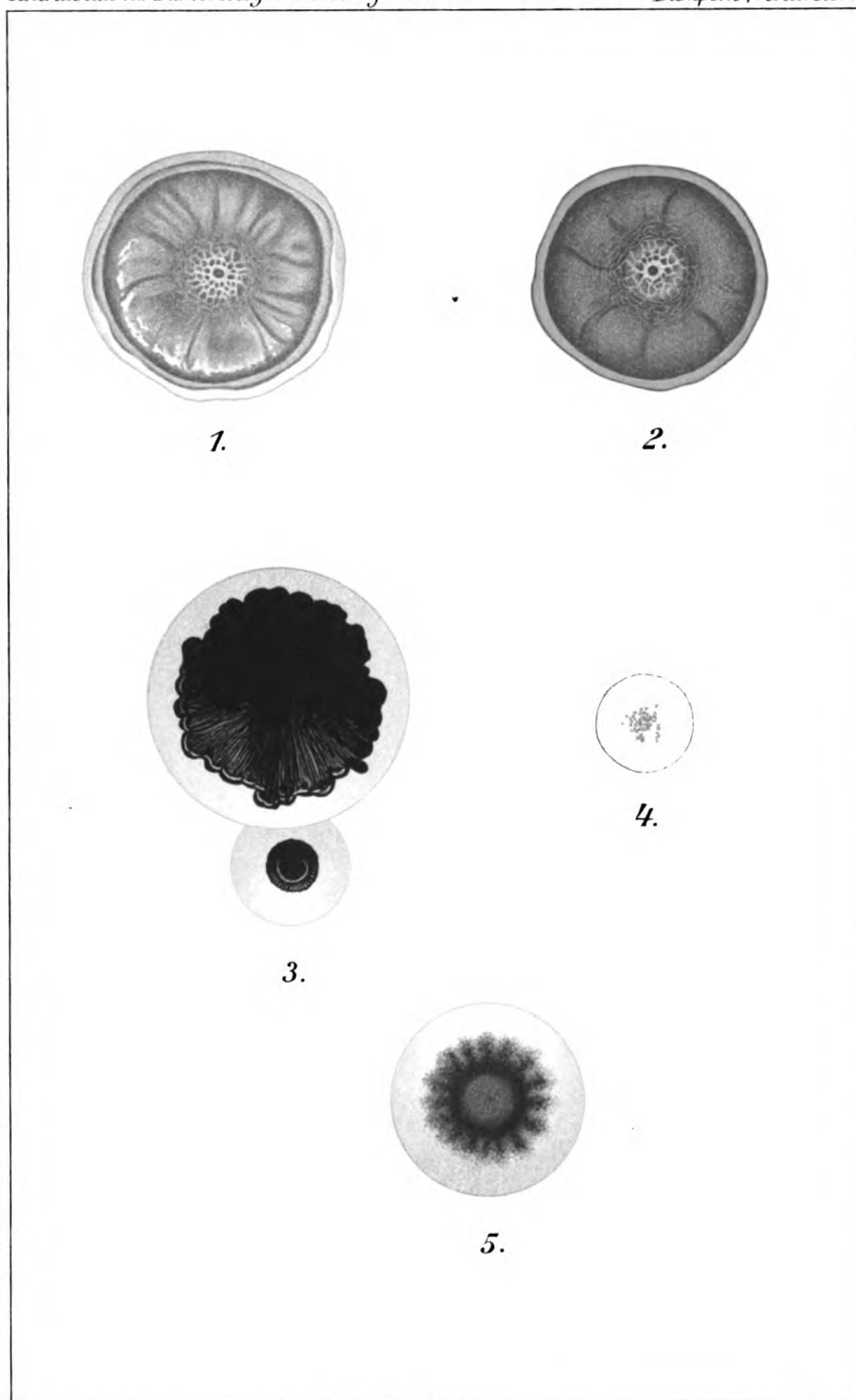
Fig. 1. Sechstägige Gelatineplattenoberflächenkolonie Membran. III, von vorn vergr. 1:5.

Fig. 2. Sechstägige Gelatineplattenkolonie Membran. III, von hinten vergr. 1:5.

Fig. 3. Sechstägige Gelatineplattenoberflächenkolonie Membran. IV, von vorn vergr. 1:5.

Fig. 4. Fünftägige Gelatineplattentiefenkolonie Membran. IV, vergr. 1:50.

Fig. 5. Fünftägige Gelatineplattentiefenkolonie Membran. IV, die später die Oberfläche erreicht hat, von hinten vergr. 1:15.



Zeichn. v. Gustav Fischer in Bonn

Druck v. A. F. Schöner in Bonn

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Züchtung, Isolierung und Desinfektion des Rauschbrandbacillus.

[Aus dem Patholog. Institut der K. tierärztlichen Hochschule München,
(Prof. Dr. Kitt.)]

Von **Eduard Hölzel,**

Prosektor am anatom. Institut der Tierärztl. Hochschule München.

Nachdem durch die grundlegenden Arbeiten Fesers und Bollingers die Ursache des Rauschbrandes im Rauschbrandbacillus (*Bacillus sive Clostridium sarcophysematos bovis* Kitt; *Bacillus Chauvoei* der französischen Autoren) erkannt war, bemühten sich zahlreiche Forscher, insbesondere französische, wie Arloing, Cornevin, Thomas u. A., die Biologie dieses für den Rinderstand so gefährlichen Mikroben möglichst vielseitig zu beleuchten.

Der Gruppe der obligat anaeroben Bakterien angehörend, war in früheren Jahren seine künstliche Züchtung nur nach ziemlich umständlichen und mühevollen Methoden zu erreichen. Seitdem es jedoch geglückt ist, durch sinnreiche und oft überraschend einfache Kunstgriffe die sogenannten „Anaeroben“ aerob zu züchten, gelingt seine Kultur ohne besondere Schwierigkeiten.

Zunächst führten 1885 W. und R. Hesse die sogenannte Höhenschichtmethode in die Bakteriologie ein, eine Methode, die von Liborius in großem Umfange erprobt, heute allgemeine Anwendung findet.

Theobald Smith lehrte 1890, die anaeroben Bakterien auch in flüssigen Nährmedien aerob zu züchten. Er bediente sich dabei jener Gärungskölbchen, wie sie zur qualitativen und quantitativen Zuckerbestimmung bei der Harnanalyse schon lange im Gebrauche waren, füllte sie mit Bouillon und fügte ein Stückchen Milz, Leber oder Niere, stammend von einem Kaninchen oder Meerschweinchen, bei.

Durch Zusatz von sterilem Blut oder sterilem Rohfleischstückchen zur Bouillon ist es Th. Smith und Kitt, in gegenseitig unabhängiger Arbeit besonders leicht gelungen, auch im Reagensglase die Züchtung bei Luftzutritt zu erreichen; später hat dann Tarozzi dasselbe eruiert. Die Zugabe keimfreien Blutes ist ferner von Hibler empfohlen worden. Vallée und Leclainche züchteten sogar in reinem Blut, und schon Ehlers, einer der ersten Bearbeiter des Rauschbrandes, bediente sich des kompakten, durch Hitze geronnenen Blutkuchens zum Kulturversuch bei Rauschbrandbacillen.

An Einfachheit noch übertroffen war diese Methode durch die Kultur des Rauschbrandbacillus in hohen Bouillonschichten, wobei ebenfalls leicht ein reiches Wachstum erzielt wurde. So schreibt z. B. Kitt: „Ich habe ganz prächtige Rauschbrandkulturen erhalten, wenn ich statt Reagensgläser zu benutzen, $\frac{1}{2}$ l Bouillon in gewöhnlichen Rollflaschen besäte und diese bloß mit Wattepfropfen verschlossen, also aerob in den Brutofen stellte.“ Scholtz bestätigte diese Angaben Kitts und glaubte die Ursache des Wachstums im Stoffwechsel der eingesäten Bakterienmassen suchen zu müssen.

Durch Zusatz von etwas Hühnereiweiß zur Bouillon wird der Nährboden nach Kitt für Rauschbrandbakterien zusagender. Die gleiche Erfahrung machte auch Wrzosek, der den Bouillonröhrchen Eiweiß und Eigelbstücke beigab, sterilisierte und sodann erst beimpfte.

Während Tarozzi steril entnommene Fleischstückchen der Bouillon beigab, erreichte Wrzosek das gleiche, wenn er zur Organbouillon schon faulende Organstücke verwendete. Freilich ließ er dann die Nährböden 15 Minuten einer Temperatur von 120° C aussetzen, um sie zu sterilisieren. Schließlich machte man die Wahrnehmung, daß es, um die Rauschbrandbacillen zum Wachstum anzuregen, schon genügte, wenn man in die Bouillon irgend ein Organstück auf einige Stunden gab, dieses aber vor dem Besäen des Nährbodens wieder entfernte.

Ori ersetzte sodann das tierische Organstück durch ein pflanzliches. Nach Tarozzi gediehen aber dabei die Rauschbrandbacillen lange nicht so üppig, wie bei den vorher angeführten Kulturmethode.

10*

Wrzosek baute wiederum diese Versuche aus. Gab er zur Bouillon ein Kartoffelstück und sterilisierte das Bouillonröhrchen samt den Kartoffelstückchen, so erhielt er ein reiches Wachstum mit allen Entwicklungsphasen und lebhaftes Sporenbildung, während die in die Bouillonröhrchen mit nicht sterilisierten Kartoffelstückchen (Ori) geimpften Anaëroben bei ihrem Wachstum viel seltener Sporen bildeten.

Durch mannigfache Variationen der angeführten Züchtungsmethoden und völlig neue Ideen wurden die Kulturformen des Rauschbrandbacillus immer zahlreicher.

So modifiziert z. B. Bandini die Methoden Tarozzis, indem er Leber und Milz gepulvert und sterilisiert in Anwendung brachte und so eine leichtere Handhabung des ganzen Verfahrens bezweckte.

Pfuhl verwendete Bouillon aus Rindsleber.

Würcker hat durch Kombination eine Kulturflüssigkeit in Gestalt der Leber-Leberbouillon gewonnen.

Harras erhielt reichliches Wachstum der Anaëroben auf Parenchymkartoffelbrei.

Mehr Bedeutung ist den besonders sorgsam Arbeiten Hiblers beizumessen, der die Anaëroben in dickflüssigem Gehirnbrei oder in Kaninchenblut züchtete, das er bei 58 oder 97° C sterilisierte.

Grassberger übertrug die Methode der Fleischstückchen auch auf feste Nährböden und fügte also abgerissene Fleischstückchen in Zuckeragar, um so das Wachstum zu begünstigen, wie denn überhaupt bei Aussaat von Rauschbrandmaterial, wenn man es von vornweg rein zur Verfügung hat, das Einbringen abgerissener Fleischstückchen in Agar eine Entfaltung von Kolonien leicht ermöglicht.

Von all diesen Methoden ist die einfachste und beste, namentlich für die Erhaltung der Virulenz geeignetste, die Züchtung in der Blutbouillon, welche Kitt wiederholt beschrieben hat. Bei dieser Methode wächst der Rauschbrandbacillus am allerüppigsten: „Hier schäumt die Flüssigkeit wie Champagner oder Bier“ (Kitt).

Liborius steigerte das Wachstum des Rauschbrandbacillus durch Zusätze von 1,5–2-proz. Traubenzucker oder 4–5 Proz. Glycerin zu den üblichen Nährböden (Bouillon, Agar, Gelatine).

Kitasato und Weyl schrieben diesen günstigen Einfluss der Reduktionskraft des Zuckers bei alkalischer Lösung zu. Sie suchten daher nach Substanzen, welche diese Eigenschaft in noch höherem Grade besitzen und fanden so das ameisensaure Natron (0,3–0,5 Proz.!) und das indigoschwefelsaure Natron (0,1-proz.!) als am meisten geeignet, jene Wirkung zu erzielen.

Auch die verschiedensten anderen reduzierenden Substanzen kamen, nachdem man ihre Bedeutung für das Wachstum der Anaëroben erkannt hatte, zur Anwendung.

So verwendete Trenkman eine 10-proz. Schwefelnatrium- oder Schwefelwasserstofflösung.

Hammerl fand Schwefelammonium noch geeigneter für diesen Zweck.

Hata bezweckte durch Zusatz von Eisenpulver (Eisenfeilspäne) ein starkes Wachstum anaërober Bacillen bei Luftzutritt.

Liefmann förderte durch Beigabe von 0,1 ccm einer 10-proz. Ferroammoniumsulfatlösung ihr Wachstum.

Pfuhl benutzte zum gleichen Zweck einen Zusatz von Platinschwamm oder Hepin zu gewöhnlicher Bouillon oder Traubenzuckerbouillon.

Wrzosek prüfte systematisch die verschiedensten Substanzen auf ihre Reduktionskraft. Nach ihm reduzieren im höchsten Grade Eisen, Holzkohle, Steinkohle, Koks, getrocknete Tier- und Pflanzengewebe, auch Pflanzensamen (z. B. Weizenkörner, Bohnen und Gerste); am wenigsten Zink, während Kreide und frische Kartoffel eine Mittelstellung einnehmen.

Faßt man das Gemeinsame aller bis jetzt angeführten Züchtungsmethoden ins Auge, so ist leicht einzusehen, daß jeder derselben mit einer den Sauerstoff entziehenden Substanz arbeitet. Je nach der Reduktionskraft dieses Stoffes ergibt sich die größere oder geringere Ergiebigkeit des betreffenden Nährbodens von selbst. Für die verwendeten chemischen Stoffe leuchtet die reduzierende Wirkung ohne weiteres ein. Daß aber auch Organteile reduzieren, hat Bernstein in einer äußerst interessanten Versuchsreihe überzeugend bewiesen. Er setzte verdünnte Blutlösungen in verschlossenen Gefäßen, die luftfrei waren, der Einwirkung von Organstücken aus. Dabei zeigte sich mit Hilfe des Spektroskops, daß ein Teil des Oxyhämoglobins in Methämoglobin übergegangen war, d. h. die Organstücke speicherten Sauerstoff in sich auf, den sie dem Blute entzogen. Frische Organe zeigten dabei diese Eigenschaft in stärkerem Grade als erhitzte.

Liefmann bediente sich zum Nachweis der reduzierenden Substanzen einer wässerigen Methylenblaulösung von der Zusammensetzung 1:500. Hiervon setzte er 1–10 Tropfen zu 5 ccm Bouillon. Durch reduzierende Substanzen, auch durch Auskochen, entsteht die farblose Leukobase. Die Entfärbung zeigt somit die ablaufende Reduktion an.

Allen diesen Verfahren der Züchtung anaërober Bakterien gegenüber gewinnt heute eine andere Methode immer mehr an Boden: die Kultur mit stärkehaltigen Nährböden. Nach E. Voit spielen die Kohlenhydrate bei Gärungsvorgängen eine hervorragende Rolle, da ihr K-Wert höher ist als der der meisten Spaltungsprodukte, welche aus ihnen hervorgehen können und höher als der K-Wert von Eiweiß und Fett — nämlich 3525 g Kalorien — und auch die O₂-Kapazität geringer ist als bei Eiweiß und Fett, nämlich 1,156. So züchtete z. B. Botkin durch partielle Sterilisierung der Marktmilch aus dieser einen anaëroben Buttersäurebacillus, der nach dem Entdecker *Bacillus butyricus* Botkin genannt wurde und vorwiegend in stärkehaltigen Nährböden endogene Sporen bildet.

Schattenfroh und Grassberger züchteten mit Stärke-Peptonbouillon den *Granulobacillus saccharo butyricus immobilis liquefaciens*. Sie setzten dabei Stärkekleister oder lösliche Stärke in solcher Menge zu, daß sie in 2-proz. Lösung vorhanden war. Beide Autoren konstatierten, daß das Wachstum in dieser Stärke-Peptonbouillon ein vorzügliches war.

Schattenfroh prüfte auch das Gärvermögen des Rauschbrandes in dieser 1-proz. Peptonbouillon, der verkleisterte Stärke zugesetzt war.

Es war denkbar, daß das üppige Wachstum bei Zusatz von Muskel- und Lebergewebe außer den reduzierenden Substanzen auch mit durch die Anwesenheit von Glykogen bedingt war. Auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Kitt, welcher selbst Versuche unternommen hatte, züchtete ich Tetanusbacillen in Glykogenbouillon.

Meine Arbeitsmethode war dabei folgende:

Zu je 10—15,0 ccm gewöhnlicher zuckerfreier Bouillon wurde in steigenden Mengen 0,2—1,0 Glykogen (bezogen von Merk in Darmstadt) gegeben. Nachdem die Reagensgläser in üblicher Weise im Dampftopf sterilisiert waren, wurden sie vorsichtig herausgenommen, rasch abgekühlt unter strömendem Wasser (besser Eiswasser!), hierauf nach dem Vorgang Tedeschis in der untersten Schicht mit einer Oese, welche einer 8-tägigen Agarkultur entnommen war, besät. Stets wurde dabei mit Sorgfalt während der ganzen Prozedur jede Erschütterung der Kultur vermieden, um keine Sauerstoffabsorption zu erzeugen.

In den Brutofen verbracht, konnte man in den nächsten Tagen eine leichte Trübung des Nährbodens beobachten. Gleichzeitig stiegen vom Grunde des Glases aus zahlreiche kleine Gasbläschen in die Höhe. Erst nach Ablauf von 14 Tagen fand der Prozeß seinen Abschluß. Die Bouillon klärte sich jetzt, während sich am Boden ein flockiger weißlicher Bodensatz anlagerte. Fertigte man von einer derartigen, etwa 48-stündigen Kultur einen tingierten Ausstrich, so bedeckten zahlreiche sporentragende Tetanusbacillen das Gesichtsfeld. Neubeimpfungen mit solchem Material an andere Glykogen-Nährbouillongläser hatten immer einen positiven Erfolg; freilich mußte man stets darauf Bedacht nehmen, die verwendeten Nährböden vor ihrem Gebrauch auf $\frac{1}{2}$ Stunde auszukochen, damit aller eingedrungene Sauerstoff wieder ausgetrieben wurde (Liborjussche Kochmethode!).

Schon früher hat Hibler unter ganz ähnlichen Versuchsbedingungen gearbeitet, indem er außer den verschiedenen Zuckerarten Kartoffelstärke und Glykogen zu Agar zusetzte und so einen Nährboden erhielt, mittelst dessen es ihm gelang, ein anaërobes Bakterium aus einem Kleinhirnabszeß zu kultivieren. Seinen Angaben zufolge war das Wachstum des Mikroben stets mit lebhafter Gasbildung verbunden; glykogenhaltige Nährböden zeigten hingegen diese Erscheinung nicht, trotz bester Entwicklung desselben.

Vergleicht man diese Angaben Hiblers und die Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen mit denen Oris, so fällt ein merkwürdiger Gegensatz auf: Ori arbeitete 1905 gelegentlich einer Analyse über die

wachstumsbedingende Substanz in der Leberbouillon unter anderem auch mit 1-proz. Glykogenbouillon. Dabei erfolgte nach der Angabe des Autors niemals ein Wachstum; wohl aber trat dieses ein, wenn er ein Leberstück der Bouillon zusetzte, das einem hungernden Tier entnommen, also fast glykogenfrei war.

Offenbar spielte in all diesen Fällen das Glykogen eine bedeutsame Rolle. Aufgebaut aus niedrigeren Kohlehydraten, wird es schließlich als Vorratsstoff in momentan für die Körpersäfte unlöslicher Form in der Leber abgelagert, um im Bedarfsfalle sofort in löslicher Form, als Traubenzucker, an die hungernden Organe weiterzuwandern.

Genau so ruht die pflanzliche Stärke, z. B. in Kartoffel, in unlöslicher Form, bis der treibende Schößling ihrer bedarf. Dieser weitgehende Parallelismus zwischen tierischer und pflanzlicher Stärke brachte mich auf den Gedanken, ob nicht die eine durch die andere im Nährboden zu ersetzen sei. Ein Versuch zeigte, wie leicht dies ging. Zwar hatten schon vorher Botkin, Schattenfroh und Grassberger mit stärkehaltigen Nährböden gearbeitet, aber diese Autoren unterscheiden sich insgesamt durch ihre streng anaërobe Versuchsanordnung. Die Methodik war dabei folgende: In ein Reagensglas mit 15 ccm steriler Bouillon, die zuckerfrei war, gab ich 0,05–1,0 g Stärke der Arten, die ich nachfolgend aufführe. Nach Sterilisation in der früher geschilderten Weise beimpfte ich die Gläser mit einer Oese einer 48-stündigen Rauschbrand-Blutbouillonkultur und verbrachte sie in den Brutofen. Zunächst kam die gewöhnliche Hofmannsche Bügelstärke zur Verwendung. Diese stellt keine chemisch reine Stärke dar, sondern ist ein Gemisch dieser mit Borax, Stearinsäure usw. Die Bakterienentwicklung war dabei so rapid, daß nach Ablauf von kaum 12 Stunden eine Schaumschicht von Fingerbreite die Oberfläche der Reagensgläser bedeckte. Stieg ich mit dem Stärkezusatz bis auf 3,0 pro 15 ccm Bouillon, so setzte sich die Stärke zunächst als ein festweicher Kleister am Boden des Reagenszylinders ab, diesen im unteren Viertel erfüllend. Die reichliche Gasentwicklung nach der Besäung riß oft die ganze Schicht in die Höhe oder zerspaltete sie in kleine Stücke.

Die gleichen Resultate lieferten auch sämtliche Stärkesorten, die mir zugänglich waren, nämlich:

Kartoffelstärke	(Amylum Solani),
Reisstärke	„ Oryzae),
Weizenstärke	„ Triticici),
Marantastärke	„ Marantae-Arrowroot),,
Bananenstärke	„ Musae),
Maisstärke	„ Maydis),
Roggenstärke	„ Secalis),
Gerstenstärke	„ Hordei),
Haferstärke	„ Avenae),
Bohnenstärke	„ Phaseoli),
Erbsenstärke	„ Pisi),
Linsenstärke	„ Lentis),
Manihotstärke	„ Manihot),
Curcumastärke	„ Curcumae),
Sago	„ Sago).

Um schließlich noch dem Einwande zu begegnen, das Wachstum könne erfolgt sein auf Grund der dem Impfmateriel anhaftenden Blutbouillon, züchtete ich 10 Generationen hindurch immer wieder von Stärke-Nährbouillon zu Stärke-Nährbouillon. Das Resultat war ein gleichmäßig günstiges, indem stets ein üppiges Wachstum zu verzeichnen war. Das Aussehen der unbesäten Nährböden war so ziemlich bei allen

Stärkesorten das gleiche: Bei Zugabe von über 1,0 g Stärke setzte sich stets eine festweiche Kleisterschicht am Boden des Glases an. Nur die Verwendung von Amylum solubile ergab selbst in Mengen bis 3 g zugesetzt, keine Kleisterbildung am Boden des Nährsubstrates. Das Wachstum des Bacillus wurde dadurch nicht beeinträchtigt, ein Beweis, daß die Entwicklung des Rauschbrandbacillus keineswegs an die Gegenwart jenes Kleisterpfropfens gebunden war.

Durch die günstigen Erfolge dieser Methode ermuntert, ging ich in der nächsten Zeit dazu über, eine noch weitergehende Vereinfachung des Züchtungsverfahrens eintreten zu lassen. Nachdem das Wachstum der Rauschbrandbacillen in stärkehaltiger Bouillon gelungen war, versuchte ich, ob die Kultur nicht in stärkehaltigem Wasser möglich ist. Ich verfuhr dabei, wie folgt:

In gewöhnliche Reagentgläser mit 10—15 ccm physiologischer Kochsalzlösung gab ich Stärkemengen von 0,5—2,0 g und sterilisierte 1 Stunde lang im strömenden Dampf. Hierauf wurden die Röhrchen in fließendem Brunnenwasser rasch abgekühlt und mit 1 Oese einer Rauschbrand-Stärke-Bouillonkultur beimpft. Bei Stärkezusatz unter 1,0 zeigte sich das Wachstum des Bacillus schon nach Ablauf von 24 Stunden in reichlicher Schaumbildung. Größere Stärkemengen lieferten einen Kleisterpfropf, wie schon früher geschildert, der durch das Wachstum der Kultur resp. die reichliche Gasentwicklung entweder in toto in die Höhe gerissen (mitunter 2 cm hoch!) oder in einzelne Teilstücke zerspellt wurde.

Nicht anders gestaltete sich das Bild, als ich statt der physiologischen Kochsalzlösung gewöhnliches Brunnenwasser zur Verwendung brachte.

Nach den geschilderten Versuchsreihen war demnach der Erfolg bei Stärkebouillon, Stärkekochsalzlösung und Stärkewasserkultur der gleiche. Die mikroskopische Untersuchung jedoch zeigte einen Unterschied: Die Stärkebouillonkultur produzierte schon im Umlauf von 48 Stunden reichlich Sporen; im Ausstrich von Stärkekochsalz- oder Stärkewasserkulturen dagegen dominierte das Rauschbrandstäbchen, manchmal zu Ketten aneinandergereiht, manchmal Involutionsformen bildend; die Dauerform des Clostridium hingegen kam mir selten zu Gesicht.

Die Virulenz des Bacillus erlitt durch die letztgenannten Kulturverfahren keine (merkliche) Abänderung bezüglich der Pathogenität für Meerschweinchen. Meerschweinchen subkutan geimpft mit 0,2 ccm einer Stärkekochsalzlösungskultur des Rauschbrandes, die als 5. Generation gezüchtet war, tötete das Tier prompt innerhalb eines Tages, und der Kadaver zeigte in ausgeprägter Form das Bild der Rauschbrandintoxikation.

Ob nicht eine Virulenzabschwächung bezüglich der Impfung für Schafe und Rinder besteht, habe ich nicht untersucht, wie dieses bei einfacher Bouillon und Eisenbouillon der Fall ist. Im allgemeinen bleiben bloß Blutbouillonkulturen für Schafe und Rinder virulent.

Isolierung.

Mit der zunehmenden Kenntnis der Bakterien machte sich das Bestreben geltend, die einzelnen Arten isoliert zur Darstellung zu bringen. Die zu diesem Zwecke erdachten Methoden sind wenig an Zahl und ungleich in ihrem Wert.

Vor R. Koch beherrschte die Pasteursche Verdünnungsmethode die Bakteriologie. Wenn auch diese Methode in den meisten Fällen

zum Ziele führt, eine absolute Sicherheit ist ihr nicht gegeben, dazu erfordert sie viel Nährbodenmaterial. Erst mit der Einführung der festen Nährböden durch R. Koch und seine Mitarbeiter sind wir in der Lage, eine einwandfreie Trennung und Reinzüchtung der Bakterien zu erzielen. R. Koch machte die bezügliche Beobachtung über isoliertes Wachstum zunächst auf der Kartoffel und ersann weiterhin die durchsichtigen festen Nährböden Gelatine, Agar, Blutserum und die Methode der Plattenkultur zur Isolierung der Keime.

Wenn man die Platten heute durch Doppelschalen von Petri, durch Kulturgefäße, ähnlich der Feldflasche, nach Petruschky, Kolie oder Flaschen nach Wilfarth, Lipez, Kamen etc. ersetzt, so handelt es sich dabei teils um Verbesserungen des alten Kochschen Verfahrens, teils um Modifikationen für spezielle Zwecke.

Der gleiche Zweck, die Oberfläche des Nährmediums zu vergrößern, wird auch durch die sogenannten Rollflaschen oder Rollröhrchen erreicht.

So einfach und zweckmäßig sich die angeführten Methoden bei der Kultur der Aëroben erweisen, so umständlich und im allgemeinen unzulänglich sind die Verfahren, welche bei der Zucht der Anaëroben Verwendung finden.

R. Koch unternahm auch die Kultur anaërober Bakterien, indem er sich zum Luftabschluß der Plattenkultur der Glimmerplättchen bediente. Eine große Anzahl Forscher suchte die schwierige Anaërobenkultur durch allerhand Modifikationen des Verfahrens leichter zu gestalten und sind unzählige Kunstgriffe in Anwendung gezogen worden (Würcker, Mücke, Sanfelice).

Marpmann und Trenkmann versuchten zwischen 2 Glasseiten (ineinander gesteckte Reagensgläser, aufeinander gelegte Uhrschildchen) eine dünne, luftleere Zone des Nährbodens herbeizuführen nach dem Prinzip der Glimmerplattenmethode, ähnlich auch Streng, Fehrs und Mücke und Stüler.

Zur Isolierung dient auch das einfache Liboriussche Verfahren, welches ich bereits im 1. Kapitel erwähnt habe, sowie das Pyrogallolverfahren Buchners, welches in betreff der Behälter, in denen es zur Anwendung kommt, ebenfalls verschieden modifiziert wurde (Babes und Puscariu, Trambusti, Braatz, Nikiforoff, Arens, Hammerl, Lentz, Heim, Slupski, Dreuw, Burt, Ransom, Rickards, Wright, Stüler, Kürsteiner, Ucke, Turro).

Die einen versuchten dann, die Abwesenheit von O zu erzielen durch Absaugen der Luft unter der Luftpumpe (Pasteur, Joubert und Chamberlain, Gruber, Roux) oder durch Austreiben der Luft durch Wasserdampf (Pasteur, Hüfner, Rosenbach, Liborius), die anderen durch Verdrängen des O mittels Ueberleitung von H (Hauser, Liborius, Hüppe, Heim und Ogata, Fraenkel, Sternberg, Fuchs, Van Senus, Blücher, Hesse, Botkin, Kitasato, Roth, Gabritschewsky, Kamen, Arens, Stüler, Opreescu, Mereshkowsky, Lubinsky, Schattenfroh und Grassberger, Albrecht und Weichselbaum, Foth).

Die Liboriussche Höhenschichtmethode ist die einfachste und kann sehr gute Resultate geben, wenn man die Verdünnung sehr weit treibt. Auffällig dabei ist, worauf bereits Foth hingewiesen hat, daß bei Aussaat großer Mengen anaërober Keime, wie sie in einer Platinöse enthalten sind, merkwürdig wenig Kolonien aufgehen und offenbar zahl-

lose Bakterien im Wachstum unterdrückt bleiben, wodurch die Isolierung begünstigt ist.

Kitasato suchte die Unterdrückung vegetativer Keime und namentlich verunreinigender Keime und das isolierte Wachstum der Anaërobsporen dadurch zu erreichen, daß er das Aussaatmaterial auf 60—70° 1 Stunde erhitzte und dadurch jene abtötete. Dieses Verfahren bewährte sich hauptsächlich bei Tetanus, Rauschbrand, malignem Oedem und Botulinus.

Kitt erhitzt zum gleichen Zwecke Rauschbrandmaterial 4—6 Stunden im Trockenkasten bei 80°.

Aus manchen Bakteriengemischen kann man auch bestimmte Arten reinzüchten, wenn man die Gemische in den Tierkörper einführt. Die für das betreffende Tier pathogenen Keime vermehren sich und töten das Tier. Aus den Organen des Impftieres ist es dann ein Leichtes, die betreffenden pathogenen Bakterien rein zu züchten.

Zur Vernichtung verunreinigender Keime und vegetativer Wuchsformen bediente sich Feokistow statt der Erhitzung einer 15-proz. (später nur mehr 10-proz.) Aetzkali- oder Aetznatronlösung, in welche er kleinere Stücke des Untersuchungsmaterials eintauchte und hierauf ohne weiteres in den Nährboden einführte.

Eine neue Vereinfachung stellte das von Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern Xyländer und Kersten 1908 in die Bakteriologie zur Isolierung des Tuberkelbacillus eingeführte Antiformin in Aussicht. Antiformin ist bekanntlich ein Gemisch von Liquor Natrii hypochlorici und Liquor Natrii caustici.

Während alle vegetativen Wuchsformen längstens in 2½—5 Minuten in dem Gemisch „restlos aufgelöst wie Zucker in Wasser“ absterben, erwies sich sporenhaltiges Material und fettgepanzerte Bakterien lebensfähig. Milzbrandsporen wuchsen noch nach 24-stündiger Antiforminwirkung aus. Mit Hilfe dieser Antiforminmethode gelang es Uhlenhuth, aus dem Sputum direkt den Tuberkelbacillus rein zu züchten, und ferner aus faulenden Lebern noch den Erreger der Geflügeltuberkulose in Reinkultur darzustellen.

Diese Methode suchte Prof. Dr. Kitt auch zur Gewinnung von Rauschbrandreinkulturen zu verwenden. Nachdem Kitt einige positiv ausgefallene Versuche gemacht hatte, beauftragte er mich, die Antiforminmethode auf Rauschbrandmaterial methodisch zu untersuchen. Die Resultate meiner Untersuchungen gebe ich in folgendem wieder:

Ich verwandte zu dieser Untersuchung nicht bloß Impfrauschbrandmaterial von Meerschweinchen, Schafen usw., sondern verschiedenes Material von spontanem Rinderrauschbrand, und zwar frisches Fleisch und getrocknetes.

Zuerst arbeitete ich mit frischem Material von Meerschweinchen, welches bekanntlich eine geringere Tenazität besitzt als das getrocknete.

Am 8. Mai 1912 wurden zur Gewinnung frischen Rauschbrandes (bzw. malignem Oedems) 5 Meerschweinchen geimpft, und zwar:

Meerschweinchen	I	mit Eisenbouillonkultur,	gest. 9. Mai
„	II	„ mal. Oedem einer Taube	„ 9. „
„	III	„ Rauschbrand W	„ 10. „
„	IV	„ Wildschweinrauschbrand	„ 9. „
„	V	„ Rauschbrand XXI	„ 9. „

Am Todestage der Versuchstiere wurden den Kadavern ohne Beobachtung der Sterilität Fleischteile entnommen und in 10-proz. Antiforminlösung übergeführt, wo sie bis zum 16. Mai — also 6—7 Tage —

verblieben. Am 16. Mai wurden die einzelnen, nunmehr gelatinös verquollenen Fleischstücke in je 2 Blutbouillonröhrchen mit steriler Platinöse übergeimpft und in den Brutofen verbracht. 2 Tage darauf (18. Mai) zeigte sich in allen Gläsern ein starkes Schäumen, verbunden mit üppigem Wachstum von zum Teil sporentragenden Rauschbrand- bzw. malignen Oedembakterien.

Als weiteres Versuchsmaterial benützte ich Fleischstücke von einem Jungrinde, das zwecks Gewinnung des Kittschen Rauschbrandimpfstoffes mit Rauschbrand geimpft wurde. Erbsen- bis bohnen große Fleischstücke legte ich ebenfalls in 10-proz. Antiforminlösung, um sie nach 1-, 2-, 3—10-stündiger Lagerung in dieser Lösung in Blutbouillon, Eisenbouillon und Agar zu bringen. In Blut- und Eisenbouillon erhielt ich nach 2-tägiger Bebrütung die Rauschbrandbacillen in Reinkultur in all ihren Wuchsformen. Noch evidenter waren die Versuche von auswärts eingesandten Fleischstücken, welche naturgemäß sehr stark verunreinigt waren. Bei zwei untersuchten Fällen war die Versuchsanordnung die gleiche wie oben beschrieben. Es zeigte sich, daß alle Keime zugrunde gingen mit Ausnahme von Rauschbrandsporen, und daß bei Kontrollprüfung auf Platten- und Schiefagar gar keine aeroben, verunreinigenden Keime in dem Material vorhanden waren.

In analoger Weise wurden am 27. Jan. 1912 20 ccm Fleischbrei von frischem Geburtsrauschbrand mit 20 ccm Antiforminlösung übergossen und bis zum 20. Febr. — mithin 24 Tage — verwahrt. Hierauf angelegte Kulturen gingen nur in Blutbouillon an, Eisenbouillon und Agar blieben steril.

Auch arbeitete ich mit altem, nach der Methode Kitts getrocknetem Rauschbrandfleisch bzw. malignem Oedemfleisch.

Zunächst kam Fleisch von einem Rauschbrandschaf des Jahres 1887 zur Verwendung. Die zerkleinerten Stücke wurden am 23. März 1912 in 10 Proz. Antiformin gebracht und darin bis zum 17. April — also 26 Tage — belassen. Mit solchem Material unternommene Kulturversuche blieben erfolglos.

Desgleichen wurde Rauschbrandfleisch vom Reh, das seit dem 3. Dez. 1902 getrocknet war, am 27. März 1912 in 10 Proz. Antiformin gegeben und am 7. April — mithin 16 Tage —, wo es bereits zu einer braunen gelatinösen Masse verquollen war, auf Nährböden, und zwar mit positivem Erfolg ausgesät.

Von Material, das seit dem 19. Dez. 1911 in 5 Proz. Antiformin lag, gelangten am 20. Febr. 1912 — also nach 64 Tagen — Proben zur Aussaat in Blutbouillon, Eisenbouillon und Agar. In den ersten beiden Kulturen wuchs der Rauschbrand rein und üppig, die Agarröhrchen hingegen blieben steril.

Das gleiche Ergebnis wurde erzielt bei einem Versuche mit Material aus dem Jahre 1885 von einem dem malignen Oedem ähnlichen, lange Fäden bildenden Stamme, der sich jedoch durch mangelnde Pathogenität für Kaninchen auszeichnete. Ein Fleischstück wurde in 1 qcm große und 1—2 mm dicke Scheiben zerlegt und am 1. März in 10 Proz. Antiformin eingelegt. Als am 19. März Aussaaten in Blutbouillon und Eisenbouillon vorgenommen wurden, gediehen die Bacillen des malignen Oedems wiederum nur in dem erstgenannten Nährboden. 0,5 ccm einer solchen Blutbouillonkultur am 22. März verimpft an ein Meerschweinchen, Kaninchen und eine Taube, tötete am 23. März das Meerschweinchen und die Taube, während das Kaninchen am Leben blieb. Im Ausstrich-

präparat fanden sich lange Fäden und Sporen, teilweise auch kurze Stäbchen und Klostridien.

Des weiteren verwendete ich auch getrocknetes Rauschbrandfleisch in mittels Kaffeemühle gemahlenem Zustande. Am 19. Dez. 1911 wurden in 200 ccm 5-proz. Antiforminlösung 50 g Fleischpulver gebracht, das bis zum 17. Jan. 1912 (also nach 1 Monat) eine braune Brühe mit gequollenen Klümpchen bildete. Solche Klümpchen, in Blutbouillon und Gehirnbouillon übergeführt, veranlaßten ein üppiges Wachstum des Rauschbrandes. Es ist daraus ersichtlich, daß noch nach 1 Monat lebensfähige Rauschbrandkeime im Antiformin enthalten sind, indem also die Blutbouillon- und Gehirnbouillonkulturen angingen.

Diese braune Brühe wurde durch ein ausgeglühtes Drahtsieb filtriert und von dem Filtrat je 5 ccm einem Schaf in die beiden Hinterschenkel verimpft; ferner wurden 2 Meerschweinchen, das eine mit 3 ccm, das andere mit 1 ccm dieses Filtrates geimpft. Die beiden Meerschweinchen verendeten nach 1—2 Tagen an typischem Rauschbrand, während das Schaf gesund blieb. Bei Kontrollimpfung nach einem Monat an beiden hinteren Schenkeln mit je 5 ccm einer konzentrierten Blutbouillonkultur (Bodensatz) erwies es sich als schutzgeimpft und bei später wiederholter Impfung erwies es sich als dauernd immun.

Es verhält sich also solches Antiformin-Rauschbrandmaterial gleich den durch Erhitzung gewonnenen Schutzimpfungsstoffen, indem hierbei offenbar eine numerische Verminderung der Keime statt des tödlichen Ausganges die Schutzwirkung gibt.

Faßt man das Ergebnis dieser Versuchsreihen kurz zusammen, so gilt: Durch 1-stündiges Verweilen frischen Rauschbrandfleisches in 5-proz. Antiforminlösung waren alle verunreinigenden Begleitbakterien abgetötet und die überlebenden Rauschbrandsporen wuchsen in zusagenden Nährböden — vor allem Blutbouillon — aus, liefern also eine Rauschbrandreinkultur.

Einmonatliche Einwirkung einer 5-proz. Antiforminlösung auf Rauschbrandfleisch verhindert nicht die Wachstumsfähigkeit der Rauschbrandsporen, wohl aber wird die Virulenz geändert, indem Blutbouillonkulturen Meerschweinchen töten, Schafe hingegen immunisieren.

Mit getrockneten Rauschbrandfleischstücken, die 64 Tage in 5-proz. Antiforminlösung lagen, konnten noch Kulturen erzielt werden, während bei 1-jähriger Lagerung in 10 Proz. Antiformin die Rauschbrandsporen nicht mehr auswuchsen.

Desinfektion.

Ueber die Wirkung chemischer Desinfektionsmittel auf das Rauschbrandvirus sind Versuche gemacht worden von Arloing, Cornevin und Thomas, Kitasato und namentlich von Di Mattei. Di Mattei prüfte diese Stoffe in der Art, daß er je 1 g pulverisiertes Fleisch oder Kultur in den verschiedenen Lösungen fein verteilte und nach 5, 10, 15, 20 etc. Minuten bis 48 Stunden langem Stehenlassen die Emulsionen verimpfte. Diese Forscher haben ihre Versuche hauptsächlich mit Sublimat und Karbolsäure angestellt. Hinsichtlich des Sublimates haben sich große Unsicherheiten bei der Desinfektion des Rauschbrandes ergeben. Bekanntlich bedarf es, wie schon von Behring festgestellt wurde, viel stärkerer Konzentrationen zur Desinfektion, wenn die Infektionserreger in eiweißartigen Flüssigkeiten sich befinden, als in wässrigen, und ergeben sich hieraus große Unsicherheiten bei Rauschbrandmaterial, das

sich im Fleisch oder Fleischsaft vorfindet. Außerdem ist die Ungleichheit der Wirkung des Sublimates auch auf Milzbrandsporen bekannt.

Wie unsicher der Sublimat in seiner Wirkung ist, haben die neuzeitlichen Untersuchungen von Steiger und Döll ergeben, wonach dieses als souverän geltende Mittel, besonders in der chirurgischen Praxis, die es bislang fast ausschließlich beherrschte, stark in Frage gestellt wird.

Das Resultat ihrer Untersuchungen gipfelt in den Satz: „Bei Verwendung quantitativer Methoden lassen sich von den in Sublimatlösungen befindlichen Mikroorganismen etwa 2,5 Prom. als entwicklungsfähig nachweisen, selbst nach 30 Minuten langer Einwirkung dieses Desinfiziens“.

Für die Praxis ist überhaupt statt derartiger teurer, giftiger Mittel und wo es, wie in einem Stalle zur Desinfektion des Bodens, der Wände, von Fäkalresten und blutigem Material etc., auf große Mengen Desinfektionsflüssigkeiten ankommt, nach Desinfektionsmitteln zu suchen, die billig sind, eine sichere Abtötung des Virus garantieren und leicht zu haben sind.

Ich übernahm deshalb die Prüfung solcher Hausmittel. Die Technik und die Schlußfolgerungen nach den Ergebnissen ist bei Rauschbrand dadurch erschwert, das, wie eingangs erwähnt, im Kapitel der Isolierung, an und für sich schon bei Aussaat von nicht mit Desinfektionsflüssigkeit behandelten intakten Keimen des Rauschbrandes in ein Nährmedium sich nicht erwarten läßt, daß alle Keime aufgehen, sondern nur ein gewisser Prozentsatz, wie das bei Agarkulturen ersichtlich ist. Hingegen darf man hoffen, daß bei Aussaat in Blutbouillon, weil diese der günstigste Nährboden ist, in dem sich das Wachstum schon durch starkes Schäumen des Nährbodens auffallend verkündet — siehe oben —, diese Fehlerquelle auf das geringste Maß zurückgeführt ist und daß, wenn überhaupt keimfähige Sporen vorhanden sind, diese jedenfalls sich entwickeln werden. Andererseits ist die Technik dadurch erleichtert, daß das Rauschbrandvirus in Sporenform außerordentlich resistent ist, und beim Antrocknen an Seidenfäden und Granaten nicht an und für sich zugrunde geht, wie dieses bei Trocknen rein vegetativer Bakterien der Fall ist. Die Methode des Antrocknens an Seidenfäden rührt von R. Koch her, Braatz benutzte Wollfäden, Xyländer verwendete 1 qcm große Drillichstückchen, Bocchia vorher sterilierte Bäuschchen von Glaswolle, Krönig und Paul sorgfältig gereinigte Granaten.

Alle diese Substanzen werden mit sporenhaltigem Material getränkt, darauf getrocknet und sodann den Desinfektionsmitteln bestimmte Zeiten hindurch ausgesetzt. Als Nachteil haftet der Methode an, daß das Desinfektionsmittel nur schwer zu entfernen ist, wodurch Nachwirkungen der Desinfizientien kaum auszuschließen sind. Trotzdem wird diese alte Methode, insbesondere die Verwendung von sporengetränkten Seidenfäden nach dem Vorgange Robert Kochs noch heute viel gepflegt, und man erhält dabei die zuverlässigsten Resultate, insbesondere wenn man sich, wie Geppert, bemüht, die desinfizierende Kraft der einzelnen Chemikalien durch Neutralisation oder Ueberführung in ungiftige Körper in den gewünschten Zeitpunkten auszuschalten.

Die gleiche Methode habe auch ich angewandt, als ich daran ging, die keimtötende Kraft der Seifensiederlauge gegenüber den Rauschbrandsporen zu erproben.

Was nun die Rauschbrandsporen betrifft, so ist es keineswegs gleich, ob ich Kulturmaterial verwende oder Fleischsaft. Das gewöhnlich sporenhaltige Material, ganz besonders der getrocknete Fleischsaft, ist ungleich

resistenter als das Kulturmateriel, das selbst wieder, je nach Sporenreife, verschiedene Tenazität besitzt.

In den Saft von Rauschbrandfleisch, den ich durch Auspressen gewonnen hatte, legte ich ca. 2 cm lange sterile Seidenfäden und ließ sie volle 48 Stunden durchtränken. Hierauf wurden sie herausgenommen, auf ein steriles Drahtsieb in einer Petri-Schale verteilt und 3 Tage lang im Brutofen (Tp. 37,5° C) getrocknet.

Daß auch die Art des Trocknens einen Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit der Sporen hat, ist von Kokubo und Foth eruiert worden. Nach Kokubo gibt das Trocknen an der Luft bei Zimmertemperatur die widerstandsfähigsten Sporen, etwas geringer ist die Resistenz, wenn sie im Exsikkator und noch geringer, wenn sie im Vacuum getrocknet werden. Auch beim Aufbewahren sinkt allmählich ihre Widerstandsfähigkeit, langsam im Dunkeln, etwas schneller im zerstreuten Tageslicht, und noch schneller in der Sonne.

Die so präparierten Fäden — es war dies mein Testmaterial für alle folgenden Versuche —, setzte ich dann der Einwirkung der Lauge bei bestimmten Temperaturen und gewünschten Konzentrationen aus, sie zu 2 und 2 in ca. 30 ccm des Mittels einsenkend. Hernach wurden sie 5 Minuten in destilliertem Wasser zur Entfernung des Desinfektionsmittels gebadet. Erst jetzt erfolgte ihre Uebertragung mittels einer sterilen Pinzette in Blutbouillon, wo sie durch eine Platinnadel auf den Grund des Zylinders verbracht wurden. Die Kulturen beließ ich während der Dauer von 10 Tagen im Brutofen, wobei ich täglich denselben Proben entnahm, um sie auf etwa vorhandenes Wachstum zu prüfen. Zur Kontrolle bediente ich mich der Tierimpfung, indem ich Meerschweinchen 0,5 ccm Blutbouillon von denjenigen Kulturen einimpfte, welche nach Ablauf von 48 Stunden kein Wachstum gezeigt hatten. Blieben die Tiere am Leben, so war offenbar mit Sicherheit erwiesen, daß jene Konzentration bei der beobachteten Temperatur in der gebrauchten Menge imstande ist, das in Frage kommende Volumen des Virus bei der gegebenen Virulenz desselben abzutöten.

Bei der Wahl der Temperatur beschränkte ich mich unter Berücksichtigung praktischer Verhältnisse auf 15° und 40° C. 15° ist die Zimmertemperatur. Der kochenden Lauge aber darf man bei ihrer praktischen Verwendung, wo sie durch Berührung mit der kälteren Umgebung rasch sich abkühlt, kaum eine höhere Temperatur im Durchschnitt als 40° zuerkennen.

A. Versuche bei Zimmertemperatur (15° C),

1. Verwendung unverdünnter Seifensiederlauge = 25-proz. NaOH-Lösung:

In ca. 250 ccm Lauge verbrachte ich eine Anzahl Rauschbrandseidenfäden, die ich nach der früher angegebenen Methode präpariert hatte. Nach Ablauf je einer Stunde entnahm ich der Lauge 2 Seidenfäden, wusch sie 5 Minuten lang in sterilem Wasser und verbrachte sie hierauf in Blutbouillon.

Als ich das Material 24 Stunden der Einwirkung ausgesetzt hatte, beschloß ich den Versuch. Das Resultat dieser Versuchsreihe war, daß die Rauschbrandsporen noch nach 13-stündigem Verweilen in unverdünnter Seifensiederlauge auswachsen; erst nach 14-stündiger Einwirkung blieb jedes Wachstum aus. Genau das gleiche Ergebnis lieferten zwei weitere gleichartige Versuche: immer unterblieb nach 14-stündiger Des-

infektion unter den oben geschilderten Versuchsbedingungen jegliches Wachstum der Rauschbrandsporen. Wurden zur Kontrolle Meerschweinchen mit 0,5 ccm einer Kultur, die nach 13-stündiger Einwirkung der Lauge angelegt war, geimpft, so starben sie prompt nach Ablauf von 2—2½ Tagen, während Injektionen gleicher Volumina Kulturen entstammend, die nach 14-stündigem Verweilen der Rauschbrandsporen in der Lauge gezüchtet waren, die Tierchen unbehelligt ließ.

2. Bei Verdünnungen der Lauge 1:1, also bei Verwendung 50-proz. Seifensiederlauge (12,5-proz. NaOH-Lösung) war, wie voraussehen, die Abtötung der Sporen eine langsamere. Erst 24-stündiges Verweilen in der Lauge vernichtete die Sporen, so daß kein Auskeimen und keine pathogene Wirkung für Versuchstiere eintrat.

Die Abnahme der bakteriziden Kraft war aber nicht, wie man vielleicht hätte annehmen können, gerade proportional der Konzentration der Lauge, sondern dieselbe sank wesentlich rascher als letztere.

3. Schon beim Verhältnis 1:3, was einer 25-proz. Seifensiederlauge-nlösung gleichkommt, mußten die Sporen 6½—7 Tage in der desinfizierenden Lösung bleiben, bis alle Sporen abgetötet waren. Erst dann hatten sie in meinen Versuchen, Keimfähigkeit und Pathogenität eingebüßt. Ich zähle hiermit das Resultat auf, ohne erneut bei jedem einzelnen Versuch Angaben über die Ausführung zu wiederholen.

Neben der Konzentration des Desinfektionsmittels und der Dauer der Einwirkung desselben auf den Mikroben, spielte die Temperatur, bei der diese Prozesse ablaufen, die größte Rolle, wie nachfolgende Versuche zeigen und worauf schon Henle aufmerksam machte.

B. Versuche bei einer Temperatur von 40° C.

1. Versuche mit konzentrierter Lauge:

In mehrere Gläser verteilt zu je 30 ccm wurde konzentrierte Seifensiederlauge in einem Thermostaten bei 40° C gehalten und in jedes der Gläser 2 Rauschbrandsporenfäden eingelegt. Von 10 zu 10 Minuten entnahm ich je 2 derselben und verbrachte sie in der früher angegebenen Weise in die Nährböden. Während bei einer Zimmertemperatur (15° C!) eine 14-stündige Einwirkung der Lauge nötig war, um alle Rauschbrandsporen abzutöten, zeigte sich die gleiche Wirkung bei Erhitzung derselben auf 40° C schon nach 40 resp. 50 Minuten.

2. Verdünnung 1:1 = (50-proz. Lauge!).

50-proz. Seifensiederlauge tötete die Sporen bei einer Temperatur von 40° C schon in 2 Stunden ab, während bei Zimmertemperatur erst 24-stündige Einwirkung zu dem gleichen Resultate führte. Ging man unter diese Zeit herab, so blieben die Sporen am Leben, konnten zum Auskeimen gebracht werden und töteten auch Meerschweinchen innerhalb zweier Tage.

3. Verdünnung der Lauge 1:3 (25-proz.).

Wurde die Lauge nur 25-proz. zur Anwendung gebracht unter Beibehaltung einer Temperatur von 40°, so mußte die Einwirkung der Lauge auf 4 Stunden ausgedehnt werden. Erst nach dieser Zeit hatten die Rauschbrandsporen ihre Pathogenität und überhaupt ihre Lebensfähigkeit eingebüßt.

Diese Desinfektionsversuche, wie sie im Laboratorium ausgeführt werden, entbehren der praktischen Bedeutung nicht. Bekanntlich unterliegen die Tiere, die an Milzbrand oder Rauschbrand oder auch nur unter dem Verdachte einer dieser Seuchen gefallen oder getötet worden sind, der Bestimmung, daß sie nicht abgehäutet werden dürfen. Eine solche

Verordnung trifft den Tierhalter in durchseuchten Gegenden schwer und entzieht Werte. Darum liegt eine Entschliebung des K. Staatsministeriums des Innern vor, vom 16. Nov. 1912, No. 403 d/6, Vollzug des Viehseuchengesetzes, wonach das Abhäuten von Rauschbrandkadavern gestattet ist unter der Bedingung, daß die Häute in der sogenannten Pickelflüssigkeit desinfiziert werden. Dieselbe besteht aus 9 l Salzsäure, vom spezifischen Gewicht 1,126 = 25 Proz. (des Handels) und 12 kg Kochsalz auf 100 l Wasser. Diesem Gemische werden die Felle bis zum übernächsten Tag ausgesetzt, erst dann erfolgt ihre Freigabe zur technischen Verwertung.

Neben dieser amtlichen Desinfektionslösung hatte man noch verschiedene andere ausprobiert, deren Wert freilich sehr variiert. So töteten nach den Versuchen Sauers 10-tägiges Verweilen in 1 Prom. Sublimatlösung alle Keime; das gleiche geschah, wenn 5-proz. Kreolinlösung oder eine Karbollösung von gleicher Konzentration, frischzubereitete Kalkmilch 1:10 verwendet wurde.

In Frankreich weiß man schon seit geraumer Zeit den Wert der jetzt auch für Deutschland amtlich eingeführten „Pickelflüssigkeit“ zu schätzen. Gerade in der neuesten Zeit werden auf Veranlassung von Kohnstein und Schattenfroh durch Reichel eingehende Untersuchungen mit Milzbrandhäuten nach dieser Richtung gepflogen. Schattenfroh selbst wies nach, daß bei Zimmertemperatur (20–22° C) eine Salzsäurekonzentration von 2 Proz. ausreicht, um in weniger als 24 Stunden die resistantesten Milzbrandsporen zu vernichten, unter der Voraussetzung, daß das 4–16-fache Volumen Kochsalz der Lösung beigegeben wird. Stieg die Temperatur der Desinfektionsbeize (1 Proz. HCl, 8 Proz. NaCl) auf 40° C, so reduzierte sich die notwendige Einwirkungs-dauer auf 2–3 Stunden. Dabei ging Schattenfroh so zu Werke, daß er die infizierten Ziegen- und Lammfelle in die Pickelflüssigkeit legte, nach erfolgter Desinfektion durch eine verdünnte Sodalösung zog und endlich in fließendem Wasser wusch. Das Beachtenswerte bei dieser ganzen Prozedur ist, daß durch den Prozeß die Häute nichts von ihrer Brauchbarkeit und Gerbfähigkeit einbüßten.

Zwick und Wedemann haben den Wert der Pickelflüssigkeit gegenüber anderen gebräuchlichen Desinfektionsmitteln am Abortusbacillus erprobt. Während eine 5-proz. Kresolseifenlösung erst nach 30 Minuten den genannten Bacillus abtötete, eine 10-proz. Karbolsäure erst nach 3-stündiger Einwirkung, erzielte die Pickelbeize (1 Proz. HCl + 8 Proz. NaCl; 2 Proz. HCl + 10 Proz. NaCl) die gleiche Wirkung schon in $\frac{1}{4}$ Minute.

Durch diese Untersuchungen angeregt, vor allem aber die Arbeit Schattenfrohs, unternahm ich es, den Einfluß der Pickelbeize auf meine Rauschbrandsporenfäden zu erproben. Ich benützte dabei dieselben Konzentrationen der Pickelbeize, wie sie Schattenfroh angegeben, nämlich:

1 Proz. HCl + 8 Proz. ClNa = Pickelbeize I, und

2 „ HCl + 10 „ ClNa + „ II.

Als Temperatur verwendete ich wieder die Zimmertemperatur (ca. 15° C) und die von 40°, welche der kochenden Lösung bei ihrer praktischen Verwendung entspricht.

Im übrigen war die Versuchsanordnung die gleiche wie bei meinen Desinfektionsversuchen mit Seifensiederlauge. Das Resultat dieser Versuche war folgendes:

Bei einer Temperatur von 15° erreichte ich erst nach 2-tägiger Einwirkung der Pickelflüssigkeit I eine sichere Abtötung aller Keime; die Beize II lieferte das gleiche Ergebnis schon nach 24 Stunden.

Wurde die Temperatur erhöht, so war die Wirkung der Beize eine viel intensivere. So tötete die Beize I bei 40°C die Rauschbrandsporen schon nach 5-stündiger Einwirkung ab, die Beize II vollends vermochte schon innerhalb 2 Stunden dieselben zu vernichten.

Nach Abschluß dieser meiner Versuche kam mir eine Arbeit von C. Maass aus dem K. Gesundheitsamte „über die Desinfektion der Häute von Rauschbrandkadavern“ zu Gesicht, eine Arbeit die durch ihre oft von den Ergebnissen anderer Autoren, besonders Sauers, weit differierenden Resultate bemerkenswert ist. Auch Maass prüfte die Einwirkung der Pickelbeize auf die Häute rauschbrandverwendeter Rinder. Zu seinen ersten Versuchen verwendete er eine Pickelbeize, die aus 2 ccm einer 25-proz. (= offiziellen) HCl und 10 g ClNa bestand, beide in 100 ccm Wasser gelöst. Später verwandte er statt dieser nur $\frac{1}{2}$ Proz. HCl enthaltenden Lösung einer 2 Proz. HCl starke Pickelbeize, indem er 8 ccm HCl auf 100 ccm Wasser gab. In dieser Lösung war nach 24-stündiger Einwirkung alle Rauschbrandkeime abgetötet.

Interessant ist die Tatsache, die auch Maass bestätigt, daß eine Pickelbeize in den verwendeten Konzentrationen auch nach 5-tägiger Einwirkung auf die Felle diese makroskopisch nicht verändert, „während eine 2 Proz. HCl-Lösung, ohne die ClNa-Beigabe schon nach Ablauf von 24 Stunden eine erhebliche Quellung und Gewebsschädigung bewirkt.“

Schlußsätze.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen sind folgende:

1) Der Rauschbrandbacillus läßt sich ohne anaërobe Vorkehrungen in Glykogenbouillon und in Bouillon oder Wasser mit Zusatz (0,5—1,0 g auf 15 ccm) gekochter Stärke verschiedener Herkunft in Watte verschlossenen Reagensgläsern leicht züchten.

2) Die Kulturen wachsen mehr oder weniger üppig mit Schaumbildung, die Bouillonstärkekulturen sind sporenreicher als die Wasserstärkekulturen.

3) Die Virulenz erfährt hinsichtlich der Pathogenität für Meerschweinchen keine merkliche Einbuße.

4) Zur Gewinnung von Reinkulturen des Rauschbrandregers und verwandter pathogener Arten (malignes Oedem, Geburtsrauschbrand, Wundbrand) eignet sich besonders die Antiforminmethode. Wenn man Rauschbrandfleisch, welches durch zahlreiche Bakterien verunreinigt ist, in kleinen Stücken in Antiformin legt, werden alle Begleitbakterien vegetativer Wuchsformen darin vernichtet und nur die Rauschbrandsporen bleiben am Leben; es können zwar auch sporenhaltige Kadaverbacillen allenfalls resistent sein, doch sind solche gewöhnlich nur in faulem Material vorhanden, während halbwegs frisches Fleisch bei der Antiforminmethode meist primäre Reinkulturen zu liefern pflegt.

5) Frisches Rauschbrandfleisch, welches in 10 Proz. Antiforminlösung 6—7 Tage gelegen hat, gibt noch Reinkulturen, selbst nach 24-tägigem

Liegen in 10 Proz. Antiforminlösung ergeben sich noch bei Aussaat in Blutbouillon lebende Kulturen. Altes getrocknetes Material in 5-proz. Antiforminlösung 64 Tage verweilt, enthält noch kultivierbare Sporen. Auch wenn das getrocknete Material von Rauschbrand und malignem Oedem zu Pulver zerrieben in Antiformin kam, waren noch nach einem Monat daraus Reinkulturen zu gewinnen.

6) Derartiges Antiforminmaterial kann, weil eine numerische Auslese der resistentesten Sporen bzw. Abtötung oder Abminderung der weniger resistenten Keime erfolgt, beim Schaf in untertödlicher Dosis Immunitätswirkung haben, während die daraus gewonnenen Blutbouillonkulturen vollvirulent sind.

7) Das Rauschbrandvirus wird durch konzentrierte Seifensiederlauge (25 Proz. NaOH) erst nach 14-stündiger Einwirkung vernichtet, in halbverdünnter Seifensiederlauge (12,5 Proz. NaOH) erst nach 24 Stunden, in 1:3 verdünnter Seifensiederlauge (ungefähr 6 Proz. NaOH) erst nach 6—7 Tagen. Bei Erwärmung der Lauge auf 40° wirkt die konzentrierte Lauge schon nach 50 Minuten, die zur Hälfte verdünnte nach 2 Stunden, die 1:3 verdünnte in 4 Stunden abtötend.

8) Die sogenannte Pickelbeize (2 Proz. HCl + 10 Proz. NaCl) vernichtete bei meinen Versuchen das Rauschbrandvirus und Blutbouillonkulturen und Fleischsaft spontaner Fälle bei 15° in 24 Stunden, bei 40° in 2 Stunden.

Pickelflüssigkeit von 1 Proz. HCl + 8 Proz. NaCl wirkt bei 15° erst nach 6 Tagen, bei 40° in 5 Stunden vernichtend ein.

Literatur.

- Arens, Eine Methode zur Plattenkultur der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1904. p. 15.)
 Arloing, Cornevin et Thomas, Le charbon symptomatique du bœuf. II. Ed. Paris 1887.
 Albrecht, Ueber Infektionen mit gasbildenden Bakterien. (Arch. f. klin. Chir. Bd. 47.)
 Babes u. Puscariu, Versuche über Tetanus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 73.)
 Bandini, Ricerche sulla coltivazione degli anaërobi. (Giorn. d. R. Accad. di Med. di Torino. Vol. 6. 7. 1906.)
 v. Behring, Ueber Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 395.)
 Blücher, Eine Methode zur Plattenkultur anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 499.)
 Bollinger, Zur Kenntnis des sogenannten Geräusches, einer angeblichen Milzbrandform. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 1. 1875. p. 297.)
 Bocchia, Ueber die desinfizierende Kraft des absoluten Amylalkohols im kochenden und im Dampfzustande. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1908. p. 469.)
 Bollinger, Experimentelle Forschungen. (Sitzungsber. d. morphol. Gesellsch. München v. 12. Juni 1878.)
 Botkin, Ueber einen Bacillus butyricus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 421.)
 — Eine einfache Methode zur Isolierung anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 383.)
 Braatz, Baumwollfäden anstatt Seidenfäden bei bakteriologischen Versuchen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 8.)
 — Eine neue Vorrichtung zur Kultur von Anaëroben im hängenden Tropfen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 520.)
 — Einiges über die Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 737.)
 Erste Abt. Orig. Bd. 71.

- Buchner, E., Ueber den Einfluß des Sauerstoffs auf Gährungen. (Zeitschr. f. physiol. Chem. 1885. p. 380.)
- Buchner, H., Eine neue Methode zur Kultur anaërober Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. p. 149.)
- Beitrag zur Kenntnis des Neapeler Cholera bacillus und einiger demselben nahe stehender Spaltpilze. (Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885. p. 361.)
- Dreuw, Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 748.)
- Ehlers, Untersuchungen über den Rauschbrandpilz. (Dissert.) Rostock 1884.
- Esmarch, Ueber eine Modifikation des Kochschen Plattenverfahrens zur Isolierung und zum quantitativen Nachweis von Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. p. 293.)
- Fehrs u. Sachs-Mücke, Beiträge zur Züchtung und Isolierung von Anaërobiern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 122.)
- Feokistow, Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 685.)
- Fermi u. Bassu, Untersuchungen über die Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. p. 563, 714, 718.)
- Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 138, 241, 369.)
- Feser, Studien über den sogenannten Rauschbrand des Rindes. (Zeitschr. f. prakt. Veterinärwiss. Bern 1876.)
- Beobachtungen und Untersuchungen über den Rauschbrand im Jahre 1879. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 6. 1880. p. 371.)
- Foth, Die Diagnose des Rauschbrandes. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. Bd. 6. 8. p. 117.)
- Fränkel, Ueber die Kultur anaërober Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. p. 735 u. 763.)
- v. Freudenreich, Ueber eine Verbesserung des Plattenverfahrens. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. p. 643.)
- Fuchs, Ein anaërober Eitererregger. [Inaug.-Diss.] Greifswald 1890.
- Gabritschewsky, Zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 248.)
- Geppert, Zur Desinfektionsfrage. (Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 7. 1891. p. 797.)
- Ghon u. Sachs, Ueber die anaërobe Züchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1903. p. 403.)
- Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 289.)
- Grasberger, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 48.)
- u. Schattenfroh, Ueber das Rauschbrandgift. Leipzig u. Wien (Deutike) 1907.
- Gruber, Eine Methode der Kultur anaërobischer Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. p. 367.)
- Hammerl, Ein Beitrag zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 658.)
- Zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. 1902. p. 589.)
- Harras, Zur Frage der anaëroben Züchtung sogenannter obligat anaërober Bakterien. (München. med. Wochenschr. 1906. p. 2237.)
- Hata, Ueber eine einfache Methode zur anaërobischen Kultivierung der Anaëroben, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Toxinproduktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 539.)
- Hauser, Ueber Fäulnisbakterien. Leipzig 1883.
- Heim, Zur Originalmitteilung von Ogata: „Einfache Bakterienkultur mit verschiedenen Gasen“. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 800.)
- Versuche über blaue Milch. (Arch. a. d. k. Gesundh.-Amt. Bd. 5. p. 518.)
- Ueber anaërobische Technik, einige Anaërobien und beginnende Eiweißfäulnis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 337.)
- Lehrbuch der Bakteriologie. Stuttgart 1911.
- Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. Heft 2; Deutsch. med. Wochenschr. 1885. p. 214.)
- v. Hibler, Zur Kenntnis der pathogenen Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 257; Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 603.)
- Untersuchungen über pathogene Anaërobier. Jena 1908.
- Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen der Tiere und des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 593.)
- Hüfner, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 13.
- Hüppe, Ueber die Verwendung von Eiern zu Kulturzwecken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. p. 80.)

- Kamen, Ein neues Kulturgefäß. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. p. 165.)
 — Eine einfache Kulturschale für Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 296.)
 Kersten, Ueber einen neuen säure- und alkoholfesten Erdbacillus nebst kurzen Bemerkungen über die zu seiner Isolierung angewandten Methoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 494.)
 Kitasato, Ueber den Tetanusbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 225.)
 — Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Kulturverfahren. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 105.)
 — Ueber das Wachstum des Rauschbrandes auf festen Nährsubstraten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 55.)
 — u. Weyl, Zur Kenntnis der Anaëroben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 41 u. 404; Bd. 9. 1890. p. 79.)
 Kitt, Bericht über die an der Seuchenversuchsstation in München und Lenggries während des Sommers 1884 vorgenommenen Arbeiten und Experimente. (Jahresber. d. kgl. Zentraltierarznschule München. 1883/84.)
 — Züchtung des Rauschbrandbacillus bei Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 168.)
 — Immunität und Schutzimpfung bei Rauschbrand des Rindes. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 4. 1904.)
 — Rauschbrand. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 2. 1903.)
 — Neues über Rauschbrand. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 13. 1902. p. 174 u. 245.)
 — Der Rauschbrand. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. p. 716.)
 — Ueber Abschwächung des Rauschbrandvirus durch strömende Wasserdämpfe. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. p. 572.)
 — Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. Wien 1908.
 Klein, Ein Apparat zur bequemen Herstellung von anaëroben Plattenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. 1898. p. 967.)
 Koch, Ueber Desinfektion. (Mitt. a. d. k. Gesundh.-Amt. Bd. 1. 1881.)
 — Ueber die Aetiologie des Milzbrandes. (Mitt. a. d. k. Gesundh.-Amt. Bd. 1. 1881.)
 Kokubo, Ueber die Anfertigung und Aufbewahrung von Sporensidenfäden für Desinfektionszwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 725.)
 Krönig u. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. p. 1.)
 Kruse, Eine allgemein anwendbare Verbesserung des Plattenverfahrens. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. p. 219.)
 Kürsteiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. p. 33.
 Lentz, Ein neues Verfahren für die Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. p. 358.)
 Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 115.)
 Liefmann, Ein einfaches Verfahren zur Züchtung und Isolierung anaërober Keime. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 377.)
 — Ueber das scheinbar aërobe Wachstum anaërober Bakterien. (München. med. Wochenschr. 1907. p. 823.)
 Lipez, Anwendung eines Kulturglases statt Platten zur Untersuchung der pathologischen Produkte auf Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. p. 401.)
 Lubinsky, Zur Methodik der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. p. 20.)
 Maass, Ueber die Desinfektion der Häute von Rauschbrandkadavern. (Arb. a. d. k. Gesundh.-Amt. Bd. 44. 1913. p. 157.)
 Marpmann, Eine neue Methode zur Herstellung von anaëroben Rollglaskulturen mit Gelatine oder Agar. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. p. 1090.)
 Di Mattei, Contributo allo studio della virulenza della spore del carbonchio sintomatico nelle carni infette e loro resistenza agli agenti fisici e chimici. (Ann. d. instit. d'ig. sperim. d. R. Univers. di Roma. Vol. 4. N. Ser. Fasc. IV. p. 497.)
 — Sulla durata e tenacità di vita della spore del bacillo del carbonchio. (Ann. d. instit. d'ig. sperim. d. R. Univers. di Roma. Vol. 4. N. Ser. Fasc. IV. p. 525.)
 Mereskovsky, Ein Apparat für Anaërobenkultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 392.)
 Migula, System der Bakterien. (Bd. 1. 1897. p. 267.)
 Nikolaier, Bemerkungen zu der Arbeit von Prof. F. G. Novy: „Die Kultur anaërober Bakterien“. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. p. 227; Virchows Arch. Bd. 128. 1892.)
 Novy, Die Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 14. 1893. p. 581.)
 — Die Plattenkultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. p. 566.)
 Ogata, Einfache Bakterienkultur mit verschiedenen Hasen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 621.)

- Oprescu, Zur Technik der Anaërobenkultur. (Hyg. Rundsch. 1898. No. 2.)
- Ori, Sulla cultura degli anaërobici. (Atti d. R. Accad. d. Fisiocrit. Sienna. Ser. 4. Vol. 17. 1905.)
- Pasteur, Sur les animacubes infusoires vivant sans oxygène libre et determinants des fermentations. (Compt. rend. del'Acad. d. sc. de Paris. T. 52. 1861.)
- et Joubert, Compt. rend. 1877.
- — et Chamberland, Compt. rend. 1878.
- —, Charbon et Septicémie. (Bull. de l'Acad. de méd. S. 1877 et 1881.)
- Pende u. Viviani, Eine neue praktische Methode für anaërobische Bacillenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 282.)
- Petruschky, Ein plattes Kölbchen (modifizierte Feldflasche) zur Anlegung von Flächenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 609.)
- Pfuhl, Die Züchtung anaërober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 378.)
- Reuschel, Die einfachste Methode der Anaërobenzüchtung in flüssigem Nährboden. (München. med. Wochenschr. 1906. p. 1208.)
- Rickards, A simple method of cultivating anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 557.)
- Rosenbach, Dtsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 16.
- Roth, Ueber ein einfaches Verfahren der Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 13. 1893. p. 223.)
- Roux, Sur la culture des microbes anaërobies. (Ann. de l'instit. Pasteur. T. 1. 1887. p. 49.)
- Sanfelice, Untersuchungen über anoërobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 339.)
- Sauer, Können ohne veterinärpolizeiliche Bedenken die Häute rauschbrandkranker Tiere zu Gerbereizwecken verwendet werden? (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 12. 1908. p. 34.)
- Schattenfroh, Ein unschädliches Desinfektionsverfahren für milzbrandinfizierte Häute und Felle. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 24. 1911. p. 735.)
- Biologisches Verhalten und Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. 42. p. 251.)
- Chemisch-biologisches Verhalten des Rauschbrandbacillus und Oedembacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. 48.)
- u. Grasberger, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 37.)
- Slupski, Bildet der Milzbrandbacillus unter streng anaëroben Verhältnissen Sporen? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 396.)
- Smith, Ueber einige Kulturmerkmale des Rauschbrandes. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. Bd. I. 1905. p. 26.)
- Das Gärungskölbchen in der Bakteriologie. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 502.)
- Scholtz, Ueber das Wachstum anaërober Bakterien bei ungehindertem Luftzutritt. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. p. 132.)
- Steiger u. Döll, Untersuchungen über die Desinfektionskraft des Sublimats. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1912. p. 324.)
- Streng, Zur Züchtung anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 598.)
- Stüler, Neue Methoden zur Anaërobenkultur und Anaërokultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. p. 298.)
- Tarozzi, Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keime. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 619.)
- Tedeschi, Ein praktisches Verfahren für experimentelle Uebertragungen anaërober Keime. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 105.)
- Trambusti, Ueber einen Apparat zur Kultur der anaëroben Mikroorganismen auf festen, durchsichtigen Nährmitteln. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 623.)
- Trenkman, Das Wachstum der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. p. 1038.)
- Turro, Zur Anaërobenkultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. 1902. p. 175.)
- Ucke, Ein Beitrag zur Kenntnis der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. p. 996.)
- Van Senus, Zur Kenntnis der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 144.)
- Beiträge zur Kenntnis der Cellulosegärung. [Inaug.-Diss.]. Leiden 1890.
- Vogel, Vorschriften für das Veterinärwesen in Bayern. Bd. 7. 1913. p. 38.)
- Voit, E., Die Berechnung der Verbrennungswärme mittels der Elementarzusammensetzung. (Zeitschr. f. Biol. Bd. 44.)

- Uhlenhuth, Antiformin, ein Bakterien auflösendes Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beiheft. p. 62.)
- Weichselbaum, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902. p. 401.)
- Wilfarth, Ueber eine Modifikation der bakteriologischen Plattenkulturen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1887. No. 28.)
- Wright, A simple Method for anaërobic cultivation in fluid media. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900. p. 74.)
- Wrzosek, Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 17.)
- Bemerkungen über die Züchtung von strengen Anaëroben in aërober Weise. (München. med. Wochenschr. 1906. p. 2534.)
- Bemerkungen zur Abhandlung von A. Calderini: „Untersuchungen über Anaërobenzüchtung nach dem Tarozzischen Verfahren“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. p. 476.)
- Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligat Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 607.)
- Würker, Ueber Anaërobose, zwei Fäulnisreger und Bacillus botulinus. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1910.
- Ylander, Versuche mit einem neuen Formalindesinfektionsverfahren, Autanverfahren. (Arb. a. d. K. Gesundh.-Amt. Bd. 26. p. 59.)
- Zupnik, Ueber eine neue Methode anaërober Züchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. 1898. p. 267.)
- Zwick u. Wedemann, Biologische Untersuchungen über den Abortusbacillus. (Arb. a. d. K. Gesundh.-Amt. Bd. 43. 1912. H. 1.)

Nachdruck verboten.

Rückblicke auf die milchhygienischen Forschungen der letzten zwölf Jahre.

Von Professor Dr. W. Rullmann in Darmstadt.

Im Laufe der Zeiten haben sich die allgemeinen Aufgaben der Hygiene wesentlich erweitert und damit haben auch die milchhygienischen Untersuchungen an Ausdehnung zugenommen.

So dürfte es vielleicht berechtigt sein, einen Rückblick auf die letzten Jahre zu werfen, in welchen auf dem Gebiete der Milchforschung sehr viel gearbeitet worden ist. Mit einer Berichterstattung über die Enzymforschung ist das Hygienische Institut der Stadt Frankfurt a. M. vorbildlich gewesen, indem es eine Arbeit Splittgerbers „Ueber den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von den Peroxydasen, Katalasen und Reduktasen der Milch“ veröffentlichte, wobei auch historische Angaben früherer Zeiten beigelegt sind.

Mit den vorliegenden Blättern soll nun versucht werden, einen tunlichst kurzen Bericht über die allgemeinen milchhygienischen Forschungen zu bringen; sollte bei der Fülle des Materials eine hier anzuführende größere Arbeit übersehen worden sein, dann bittet der Verfasser im voraus um Entschuldigung.

In dem Hygienischen Institute der Universität München wurde von 1901 an diesem Forschungsgebiete erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet, da damals eine dortige Molkerei um bakteriologische und chemisch-biologische Untersuchung ihrer Rohmilchzufuhren und ihrer Produkte nachsuchte. Die zur Vornahme der Untersuchungen erforderliche Erlaubnis wurde von dem damaligen Vorstände, dem unvergeßlichen, für die Wissenschaft viel zu früh verstorbenen Prof. Dr. Hans Buchner

mit dem Bemerken erteilt, „daß diese Veranlassung Gelegenheit geben wird, auf diesem Gebiete unsere Kenntnisse zu erweitern“. Ebenso bereitwillig gab auch der Nachfolger, der jetzige Vorstand des Institutes, Herr Obermedizinalrat Prof. Dr. v. Gruber, die Zustimmung zur Fortsetzung dieser Untersuchungen, welche 10 Jahre lang zur Ausführung kamen.

Eingangs sei nur kurz erwähnt, wie es bis zur Mitte des vorigen Jahrhunderts mit der Milchhygiene bestellt war; so schildert W. Hanauer¹⁾ in seiner bis zu dieser Zeit gehenden Geschichte Einzelheiten aus dem alten und neuen Testament und auch aus der klassischen Zeit der Griechen und Römer. In späterer Zeit finden sich Angaben über polizeiliche Verordnungen des Milchverkehrs, der Verfälschungen usw.; schon damals war der Zwischenhandel nicht hochgeschätzt. Ende des 18. Jahrhunderts war es Johann Peter Frank, welcher die Sanitätspolizei und die öffentliche Gesundheitspflege kodifizierte; dieser Autor führte auch an, daß in Paris durch Aufbewahren von Milch in kupfernen Gefäßen ganze Familien vergiftet worden seien. Das aus Frankreich stammende Galaktometer von Cadet De Vaux fand 1804 zuerst Verwendung. Scharfe Bestimmungen erließen verschiedene Städte, so besonders Wien, und Hamburg bekam 1840 das erste Milchgesetz. Schon Gottlieb v. Ehrhardt wies 1816—25 in seinem physikalisch-medizinischen Polizeibuch nach, daß die Ernährung durch die Mutterbrust allen anderen Ernährungsarten vorzuziehen sei. Auf den Zusammenhang zwischen Scrofulose und Rohmilch scheint man erst Mitte vorigen Jahrhunderts aufmerksam geworden zu sein und Prof. Klenke (1846) schuldigt in seiner diesbezüglichen Arbeit diejenige Milch an, welche von schlecht genährten, unzweckmäßig mit Schlampe und Trester gefütterten und des Weideganges entbehrenden und kranken Tieren stammt.

Wenn wir dann noch keine raschen Fortschritte der Milchhygiene zu verzeichnen haben, so tritt ein solches bald nach Robert Kochs ersten Arbeiten ein; es dürfte zu weit führen, über alle wichtigen Erscheinungen aus dieser Epoche bakteriologischer Forschung zu berichten, da die hier tätig gewesenen Autoren wie Flügge, Hüppe, v. Soxhlet, Petruschky, Escherich, Duclaux und viele andere zu bekannt sind, um nochmals in unserem Leserkreise und bei dieser Gelegenheit besprochen zu werden.

Das Erscheinen von Flügges²⁾ so wichtiger Arbeit „Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge“ und ähnlich lautende Anschauungen von Weber³⁾, ferner Escherichs⁴⁾ Veröffentlichung „Ueber die Bedeutung der Bakterien in der Aetiologie der Magen- und Darmkrankheiten der Säuglinge“ geben Veranlassung zu erhöhter Tätigkeit auf diesem Gebiete und als ein Produkt hiervon kann auch das Gerbersche Pasteurisierungsverfahren angesehen werden, welches alle dem Soxhletschen Sterilisationsprozesse anhaftenden Mängel beseitigen soll. Dr. Gerber hat nach privater Mitteilung bereits in den 80er Jahren die technische Einrichtung dieses Verfahrens im Staate New York begonnen und auf Prof. Forster (†) Veranlassung genauere Temperaturbestimmungen festgestellt.

1) Hanauer, Hyg. Rundsch. 1908. No. 20.

2) Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894. p. 272—342.

3) Weber, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 17. 1910. p. 110.

4) Escherich, Dtsch. med. Wochenschr. 1898. p. 40—41.

In dem nach Forster-Gerber die Milch zur Vermeidung von Hautbildung in geeigneter Weise unter ständigem Hin- und Herbewegen eine Stunde lang unter nicht täuschender automatischer Kontrolle in einem Wasserbade auf 68—69° C erhitzt wird, werden hierbei alle einschlägigen pathogenen Bakterien abgetötet, der Eiweißgehalt und das Lecithin nicht geschädigt, der Milchzucker nicht karamelisiert und die verschiedenen Enzyme nicht vernichtet. Dabei bleiben aber die Verdauung fördernden Bakterien teilweise erhalten und bei kühler Aufbewahrung tritt innerhalb 24—36 Stunden keine Zersetzung ein und da auch nach Duclaux eine Geschmacksbeeinflussung erst nach Erhitzen auf 70° C zu bemerken ist, wird diese Milchart gerne genommen. Nach zweijähriger Dauer der Kontrolle stellte Verfasser¹⁾ die gemachten Erfahrungen zusammen und ergab sich aus 208 Untersuchungen der zur Verarbeitung benutzten Rohmilch ein Durchschnittsgehalt von 129 590 Keimen in 1 ccm, von Gerber-Milch ein solcher von 88 Keimen in 1 ccm.

Bei den angelegten Plattenkulturen fanden sich einzelne interessante Bakterienarten, welche isoliert und l. c. beschrieben sind.

Diese Untersuchungen gaben auch Veranlassung zum Studium der Enzyme²⁾, da zur Feststellung des Nichtüberschreitens von 68—69° C die betreffenden Reaktionen bei Prüfung der Gerber-Milch zur Anwendung kamen. Noch eine weitere Arbeit³⁾ zeitigte das zur Verfügung stehende Milchmaterial; es war von Wichtigkeit, trotz der von Lazarus⁴⁾, Bitter⁵⁾, Hesse⁶⁾ und Hüppe⁷⁾ vorliegenden Angaben, welche die Vernichtung der pathogenen Bakterien bei den angewendeten Temperaturen bestätigen, aus eigener Erfahrung darüber sicher zu sein, daß ganz besonders Tuberkelbacillen in der dem Forster-Gerber-Verfahren unterzogenen Milch vernichtet werden. Da die genannten Autoren, ebenso wie Smith⁸⁾ nicht die im Gerberschen Schüttelapparate gleichmäßig herrschende Temperatur von 68—69° C verwendet hatten, so begann Verfasser zunächst bei +60° C, ging dann auf 65° bei je halbstündiger Erhitzungsdauer über und nachdem in beiden Fällen bei etwa 20 Tierversuchen bewiesen war, daß in der allerdings absichtlich sehr stark mit Tuberkelbacillen besäten Milch durch obige Temperaturen in der angegebenen Zeit keine vollkommene Abtötung zu erreichen war, so wurde dann die Temperatur von 68—69° unter einstündiger Dauer bei ständigem Schütteln angewendet. Jetzt wurde bei 6 Tierversuchen (p. 11) in allen Fällen nach 30-tägiger Infektionsdauer die vollkommene Vernichtung der Tuberkelbacillen bewiesen und damit stand fest, daß durch das Gerber-Verfahren auch dieser pathogene Schädling abgetötet wird, von welchem wir durch L. Rabinowitsch⁹⁾ wissen, daß Kühe, auch ohne Eutertuberkulose in ihrer Milch Tuberkelbacillen enthalten können.

Zu dieser Zeit begannen auch die Uebersetzungen der hervorragenden Koningschen¹⁰⁾ Arbeiten zu erscheinen und das Handbuch der Tech-

- 1) Rullmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. p. 658—672.
- 2) Rullmann, Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1904. H. 2.
- 3) Rullmann, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 31 u. 1904. No. 12.
- 4) Lazarus, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. p. 207.
- 5) Bitter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. p. 240.
- 6) Hesse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900 u. Bd. 42. 1903.
- 7) Hüppe, Zeitschr. f. Hyg. p. 309—312.
- 8) Smith, Th., The Journ. of experim. Med. Vol. 4. 1899. No. 2.
- 9) Rabinowitsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 226.
- 10) Koning, Pharmacent. Weekbl. 1905; übersetzt Milchwirtsch. Zentralbl.

nischen Mykologie von Lafar¹⁾ brachte von Weigmann²⁾ eine sehr gediegene, ausführliche Arbeit über die Herkunft der Bakterien in der Milch, sowie über die Gärungen in derselben, den Abbau ihrer Bestandteile und abnormale Erscheinungen an derselben und ihren Produkten. Hier interessiert ganz besonders die Abhandlung „die Milch als Verbreitungsmittel menschlicher Krankheiten (Typhus, Tuberkulose, Cholera, Scharlach, Diphtherie usw.)“. Gleichzeitig erschien Freudenreichs³⁾ Werk „Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft“.

Durch die Zunahme milchbakteriologischer Arbeiten angeregt, begannen dann Trommsdorff und Rullmann⁴⁾ ihre milchhygienischen Untersuchungen, die direkt durch die von Bergey⁵⁾ herausgegebene Arbeit gezeitigt wurden, um auch speziell für unsere deutschen landwirtschaftlichen Verhältnisse eine Richtschnur für nicht zu schwer erhaltbare, tunlichst sauber gemolkene Milch zu gewinnen und einen Vergleich mit den von Bergey in Amerika gefundenen Keimzahlen ziehen zu können.

Die berechnete Forderung unserer modernen Milchhygiene, nicht allein eine von pathogenen Keimen freie, sondern überhaupt eine keimarme Rohhandelsmilch zu erzielen, wurde damals immer dringender anerkannt und so sollte bewiesen werden, ob und wie weit allein sauberes Melken und Auffangen der Milch in sterilisierten Gefäßen bei sofortiger Tiefkühlung diese wichtige Lebensmittelversorgung fördern können. Desgleichen sollte auch bakteriologischen Spezialfragen, so dem Vorkommen von Streptokokken in der Milch, welchem von mehreren Forschern eine große Wichtigkeit bei der Säuglingsenteritis, besonders zur Sommerszeit, zugeschrieben wird, ferner dem Zusammenhang zwischen deren Zahl und der Leukocytenmenge in der Milch, auf welche gleichfalls Bergey verwiesen hatte, näher getreten werden. Damals hatte Trommsdorff⁶⁾, angeregt durch Bergeys und seine eigenen Versuche, die inzwischen überall bekannt gewordene und mit ausgezeichnetem Erfolge angewendete Milchleukocytenprobe eingeführt. Diese Probe gestattet vor der klinisch festgestellten Mastitis aus der ausgeschiedenen Leukocytenmenge den Beweis einer vorhandenen Euterentzündung zu bringen und jeweils aus dem Centrifugat anzufertigende mikroskopische Präparate dienen als Belag für die Anwesenheit von Streptokokken. Das Material zu diesen Untersuchungen lieferte ein unter amtstierärztlicher Kontrolle stehender Stall Münchens, welcher sich hauptsächlich mit Abgabe von Kindermilch befaßte. Die Proben kamen in sterilisierte, vor dem Einmelken flambierte weithalsige 100 ccm Flaschen und wurden gewöhnlich zu Anfang, gegen Mitte und Ende des Melkens entnommen, welches anfangs ohne jegliche besondere und bei späteren Untersuchungen mit leicht ausführbaren Reinlichkeitsmaßregeln stattfand. Zur Feststellung der Keimzahlen dienten Agarplatten; das Petruschkysche Verfahren⁷⁾ des „Termophilontiter“ hat sich hierbei nicht bewährt und ergab keine besseren und exakteren Zahlen

1) Lafar, Jena (Gust. Fischer).

2) Weigmann, Lafars Mykologie. Lief. 9.

3) Freudenreich, Jena (Gust. Fischer).

4) Rullmann u. Trommsdorff, Arch. f. Hyg. Bd. 59. 1906. p. 224—265.

5) Bergey, Source and Nature of bacteria in milk. (Departem. of Agricult. Bull. No. 125. Commonwealth of Pennsylvania. 1904.)

6) Trommsdorff, Münchn. med. Wochenschr. 1906. No. 12; Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 15.

7) Petruschky u. Pusch, Zeitschr. f. Hyg. 1903.

als die genau geschilderte Agarplattenmethode, so daß von der Veröffentlichung des sehr umfangreichen Protokolles abgesehen wurde. Nur einige Einzelheiten der Plattenkulturen seien hier erwähnt, so zeigt Tabelle I die Keimzahlen von Milchproben, welche ohne besondere und Tabelle II, welche mit Reinlichkeitsmaßnahmen entnommen wurden.

So ergab I als Mittel aus 96 Proben für 1 ccm 6700 Keime

II „ „ „ 63 „ „ 1 „ 1500 „ ;
jedenfalls ist hierdurch bewiesen, welcher großen Einfluß Händewaschen vor und nach dem Melken und Euterreinigung auf den Anfangskeimgehalt der Milch haben. — Dann folgen Mitteilungen über die Haltbarkeit der Milch, die frischgemolken sofort in Eispackung kam und dann bei Zimmertemperatur verblieb, wobei sich ergab, daß bei einigen Proben schon innerhalb 5—7 Stunden ein deutliches Absinken der Keimzahl eintrat, so daß in einer großen Zahl der Fälle die Keimzahlen nach 1, 2, ja selbst nach 3 und in einem Falle noch nach 5 Tagen niedriger als sofort nach dem Melken gefunden wurden. Auch hierbei bestätigte sich, daß die verschiedenen Milchproben aus den einzelnen Zitzen der Kuh, ja selbst die einer Zitze entstammenden zu verschiedenen Melkzeiten entnommenen durchaus nicht gleichmäßig sind. Um die Frage, ob sich der bei kleinen Proben erzielte günstige Erfolg angewandeter Reinlichkeitsmaßregeln auch bei Entnahme größerer Milchmengen bewähren würde, wurden von zwei Kühen unter verschiedenen Bedingungen an drei verschiedenen Tagen je 2 l Milch direkt in sterile Flaschen gemolken und die niedergelegten sechs Versuchsreihen (Tabelle VII) ergaben ein günstiges, für die Nützlichkeit der Maßregeln sprechendes Resultat. — Auch die damals noch ziemlich neue Methode von Neißer-Smidt, mittels Methylenblau die Reduktase der Milch zu ermitteln, kam zur Anwendung und ergab entscheidende Resultate. Bei Isolierung verschiedener Bakterienarten wurde auch ein grampositives Stäbchen gefunden, welches in bis jetzt noch nicht aufgeklärter Weise bei Einstich in 1-proz. Zuckeragar bei 37° denselben in mathematisch genauen Schichten braunrot färbt und solches in mehreren abwechselnd farblosen und rotbraunen Lagen wiederholt, so daß dieses Stäbchen als *Bacillus stratutum colorans* (p. 239) beschrieben wurde. — Streptokokken fanden sich in den meisten Proben, ebenso auch häufig *Staphylococcus aureus*. Daß die Trommsdorffsche Leukocytenprobe bei den Versuchen in ausgedehntester Weise und sehr erfolgreich angewendet wurde, sei hervorgehoben; hierdurch wurden auch viele sogenannte „Streptokokkenkühe“ ermittelt. Während so einerseits eine ungemeine Verbreitung der Streptokokkenmastitis erwiesen wurde, konnte andererseits in einem Stalle, der sich durch streng durchgeführte Sauberkeit auszeichnete, bei 67 Kühen in keinem Falle der Verdacht auf bestehende Mastitis begründet werden. — Auf die Möglichkeit einer Serotherapie wird von den Verfassern nur hingewiesen. — In einem anderen Falle (Tabelle XI) wurden bei zwei als vollkommen gesund geltenden Kühen große Streptokokkenmengen nachgewiesen.

Bezüglich der Pathogenität der isolierten Streptokokkenstämme ließ sich ermitteln, daß in einer Anzahl von Fällen Mäuse und Meerschweinchen nach intraperitonealer Infektion und nach Verfütterung von Milchproben oder aus solchen gezüchteten Stämmen an Streptokokkenseptikämie zugrunde gingen, aber die Experimente bewiesen nichts für deren Patho-

genität bei Menschen. Auch heutigen Tages ist die Frage über die Pathogenität der Milchstreptokokken bei Menschen noch nicht geklärt, wie sich aus einem Vortrage im Kollegium des Herrn Prof. v. Gruber am 19. Febr. 1913 ergab, welchen der Schreiber dieser Zeilen zu hören Gelegenheit hatte, wenn auch verschiedene Forscher, wie Holst¹⁾, Escherich und seine Schüler, Brüning²⁾, Petruschky u. Kriebel³⁾ glauben, daß die wesentliche Ursache der Sommersterblichkeit der Säuglinge eine Folge der in der Handelsmilch genossenen Milchstreptokokken sei. Immerhin muß man aber die Möglichkeit einer Schädigung des menschlichen und speziell des jugendlichen Organismus im Auge behalten und das häufige Vorkommen von großen Streptokokkenmengen in der Milch läßt eine Warnung vor dem Genusse roher Milch besonders bei Kindern gerechtfertigt erscheinen. Durch Trommsdorffs Methode kann man sich jetzt leicht über den Leukocytengehalt informieren und auch Weigmann⁴⁾ schließt sich den übrigen Autoren für die Ausschaltung mastitiskranker Kühe vom Milchverkehr an. — Gelegentlich der Versuche über die bakterizide Kraft der frischen Milch glauben die Verfasser aus denselben folgern zu können, daß solche bei Eutern mit mastitischen Prozessen eine erhöhte sei und daß eine Abhängigkeit der Bakterizidie der Milch von der in ihr enthaltenen Leukocytenmenge besteht. Die Richtigkeit dieser Anschauung erwies sich bei einer später anzuführenden Arbeit Rullmanns (s. Literaturverzeichnis No. 62) „Ueber den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch“. In Abschnitt IV — pathologische Milch, Leukocyten resp. Leukine — zeigte sich da des öfteren, daß bei großen Mengen von Leukocytenzentrifugat meist die Streptokokken vernichtet oder mindestens schwer geschädigt waren, so daß die bakterientötenden Eigenschaften der Leukocytenstoffe resp. Leukine klar zutage traten. In ausgedehnterem Maße werden diese Erscheinungen in der unter No. 98 zitierten Arbeit desselben Verfassers festgestellt.

Gelegentlich der eben besprochenen Arbeit erhielt Rullmann⁵⁾ Material zu Studien über Reinkulturen von *Oidium lactis*, welche in sterilisierte Milch eingesät wurden. Entgegen den Literaturangaben von C. H. Eckles⁶⁾, Adametz⁷⁾, Laxa⁸⁾, Graf⁹⁾ u. a. welche *Oidium lactis* als Säureverzehrer hinstellen, konnte durch Versuche zunächst erwiesen werden, daß die bei 15–20° C stehenden Zuchten sich am besten entwickelten und eine dichte Pilzdecke die Oberfläche überzog. Es ergab sich beim Vergleichen von zwei Versuchsreihen ein auffallender Unterschied in der Höhe der ermittelten Säuregrade, welches durch eine verschiedenartige Beschaffenheit der Milch Erklärung fand. Die eine Milch war leicht keimfrei zu erhalten, während es bei der anderen mehrfacher und hoher Erhitzung bis zur vollkommenen Sterilität bedurfte, so daß bei letzterer eine tiefer gehende Beeinflussung der Eiweißkörper, des Milchzuckers usw. statthatte. So war es erklärlich, daß die letzte

1) Holst, zit. nach Jensen, Grundriß der Milchkunde. Stuttgart (Enke) 1903.

2) Brüning, Jahrb. f. Kinderheilk. 1905. H. 1.

3) Petruschky u. Kriebel, Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge. Leipzig (F. Leinenweber) 1904.

4) Weigmann, Lafar, Bd. 2, Jena (Fischer) 1906.

5) Rullmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. 1907. p. 743–748.

6) C. H. Eckles, Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. 14. 1905. p. 679.

7) Adametz, Lafar II, Bd. 2. p. 185.

8) Laxa, Lafar II, Bd. 2. p. 300.

9) Graf, Oesterr. Molkereiztg. Bd. 7. 1899. p. 215.

Milchart der Einwirkung von *Oidium lactis* größere Schwierigkeiten entgegensetzte und die ermittelten Säuregrade auch bezüglich der erforderlichen Zeitdauer zu ihrer Bildung differierten. Weitere verschiedenartige und biologisch interessante Beobachtungen, die auch von Schmidt¹⁾, Guillebeau²⁾, Troilli-Peterson³⁾ bestätigt sind, beweisen die mannigfache Tätigkeit von *Oidium lactis*.

In dieser Zeitepoche ist auf dem Gebiete der Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis ungemein fleißig gearbeitet worden, und ist hier vor allen Dingen der ausgezeichneten Veröffentlichung von Dr. W. Ernst⁴⁾ zu gedenken, welcher das sich ihm als städtischem Tierarzt an der amtlichen Milchuntersuchungsstelle München bietende reiche Material benutzte, um ganz besonders eine Differenzierung pathogener und saprophytischer Milchstreptokokken zu ermöglichen. An dieser Stelle sei es gestattet, auf die großen Verdienste genannter amtlicher Stelle hinzuweisen, welche bezüglich ihrer Beaufsichtigung des Münchener Milchverkehrs geradezu mustergültig wirkt und deren übrigen Mitgliedern viele wichtige Arbeiten auf diesem Gebiete zu danken sind, so u. a. l. c. diejenigen von Mai und von Rothenfusser. — Es seien hier aus der Ernst'schen Arbeit die wichtigsten Abschnitte genannt: 1) Milchstreptokokken und ihre Differenzierung; hier finden sich eine Anzahl sehr charakteristischer Abbildungen. 2) Mastitisstreptokokken und die menschliche Gesundheit; eine Auslegung „über gesundheitsschädlich im Sinne des Nahrungsmittelgesetzes“ ist hier hervorzuheben. 3) Verlauf, Ausbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Streptokokkenmastitis. Den Inhalt dieses Abschnittes faßt Ernst dahin zusammen, daß die Streptokokkenmastitis einen Verlauf hat, welcher praktisch der Unheilbarkeit gleichkommt und daß nach den bisherigen Beobachtungen rund 20 Proz. der Kühe und von deren Vierteln ca. 50 Proz. von der gelben Galt befallen sind. Der gegenwärtig mutmaßlich in Betracht kommende Produktionsausfall von 10 Proz. für ganz Deutschland berechnet, beträgt eine Summe von 250 Millionen Mark. Diese Summe aber der Deutschen Landwirtschaft zu erhalten, wäre eines allgemein durchgeführten, wenn auch schweren Kampfes gegen die Streptokokkenmastitis wohl wert.

In Abschnitt IV folgen die grobsinnlich wahrnehmbaren Veränderungen des Euters und des Sekretes; hier sei nur Schlußsatz 3 angeführt, wonach Milch aus kranken Vierteln und Mischmilch oder Sammelmilch, die nachweislich mit dem Sekret kranker Viertel verunreinigt ist, als verdorben im Sinne des § 10 des Reichsnahrungsmittelgesetzes und verdorben im Sinne des § 367 des Reichsstrafgesetzbuches anzusehen ist.

„Die Diagnose der gelben Galt aus Milchproben“ bildet Abschnitt V; auch hier sind sehr gute Abbildungen beigegeben. In Abschnitt VI: „Tätigkeit der amtlichen Milchuntersuchungsstelle in der Streptokokkenfrage“ wird der Schluß dieser wichtigen Schrift gebracht; er lautet: „die Milchhygiene hat im Stalle zu beginnen und dieser Teil der Milchversorgung ist mit eines der wichtigsten in der Säuglingsfürsorge. Sache der Tierärzte vor allem wird es auf diesem speziellen Gebiete sein, be-

1) Schmidt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1890, p. 109.

2) Guillebeau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1892, p. 438.

3) Troilli-Peterson, Koch, Jahresber. 1899.

4) Ernst, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 20. H. 9/12; Bd. 21. H. 1/2.

lehrend auf die Landwirte einzuwirken — wie und wo nur immer — zum Nutzen des Nationalvermögens, zum Wohle der Volksgesundheit.“

Ziemlich gleichzeitig erschien eine kritische Studie nebst eigenen Beiträgen über die Trommsdorffsche Leukocytenprobe von dem städtischen Tierarzte G. Rühm¹⁾, München. Auch diese sehr fleißige Arbeit bestätigt, auf reicher Erfahrung beruhend, daß durch obige Leukocytenprobe die frühzeitige Erkennung von Mastitis, bevor durch Milchinspektion und Palpation des Euters eine solche zu erkennen war. Auch Rievel²⁾ und Kitt³⁾ empfehlen dieselbe in ihren Lehrbüchern. Einen sehr interessanten Teil der Rühmschen Abhandlung bildet die Frage, welche Verhältnisse zur vermehrten Zellausscheidung in der Milch bei pathologischen Prozessen im Euter führen. Die Beantwortung a) durch nichtinfektiöse Prozesse und b) durch infektiöse Prozesse, sei in ihren Einzelheiten auf p. 12—18 den Interessenten empfohlen. Noch eine andere, sehr umfangreiche Arbeit erschien damals von A. Auzinger⁴⁾ „Studien über die Alkoholprobe der Milch, ihre Verwendbarkeit zum Nachweis abnormer Milch und ihre Beziehungen zu anderen Prüfungsmethoden pathologischer Milch“; von ganz besonderem Werte ist derselbe für Enzymforschungen.

Auch zwei Mitteilungen aus milchwirtschaftlichen Laboratorien sind hier zu erwähnen, die erste von Eichloff⁵⁾, welche über die Nachteile berichtet, die im Molkereibetriebe durch Zusatz von Formalin zur eingelieferten Milch entstehen, und von Windisch⁶⁾, welcher zur Konservierung von Milchproben zu analytischen Zwecken den Zusatz von Kupferammonsulfat oder Kaliumbichromat empfiehlt.

Gleichfalls hierhergehörig ist die Arbeit von O. Fettick⁷⁾: „Ueber die antibakterielle Wirkung des Lysoforms, mit besonderer Berücksichtigung der in den Milchwirtschaft vorkommenden Bakterien“ und „Das Lysoform im Dienste der hygienischen Milchproduktion.“ Hieran schließen sich Burr, Berberich und Lauterwald⁸⁾ mit ihren Untersuchungen über Milchserum, sowie Ostermann⁹⁾ mit „Infektionschancen beim Genusse von Milch und Milchpräparaten von perlsüchtigen Kühen“. Eine weitere Reihe diesbezüglicher Arbeiten, welche in kurzen Intervallen erschienen, schließt sich noch an, so von Galvagno¹⁰⁾: „Zur Untersuchung pasteurisierter Milch“, Christian¹¹⁾: „Die Salizylsäure als Konservierungsmittel“, Rühm¹²⁾: a) „Zur Frage der Pathogenität der Streptokokkenmilch“ und von demselben Verfasser b) „Untersuchungen über das Vorkommen und die Häufigkeit der Streptokokkenmastitis“.

Von Bergey¹³⁾ erscheint als Ergänzung seiner eingangs erwähnten Arbeit eine Veröffentlichung „über den Gehalt an Leukocyten und Streptokokken in der Kuhmilch“, und Hesse¹⁴⁾ erweitert die Reihe der Unter-

1) Rühm, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1909. H. 6/8.

2) Rievel, Handb. d. Milchkunde. Hannover 1907.

3) Kitt, Bakterienkunde u. pathol. Mikroskopie. 1908.

4) Auzinger, Milchw. Zentralbl. 1909. H. 7/10.

5) Eichloff, Milchw. Zentralbl. 1908. H. 3.

6) Windisch, Milchw. Zentralbl. 1908. H. 3.

7) Fettick, Milchw. Zentralbl. 1908. H. 4. p. 300.

8) Burr, Berberich u. Lauterwald, Milchw. Zentralbl. 1908. H. 4/6.

9) Ostermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. p. 410.

10) Galvagno, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 652.

11) Christian, Hyg. Rundschau. 1908. p. 1321.

12) Rühm, a) Wochenschr. f. Tierheilk. Jg. 52. No. 9. — b) Ebenda. No. 7/8.

13) Bergey, Univers. of Pennsylvania. Medic. Bull. Sept. 1907.

14) Hesse, Milchw. Zentralbl. 1908. H. 3.

suchungen über Enzymreaktionen mit „Die Schardingersche Reaktion zur Untersuchung von roher und gekochter Milch“.

Willim¹⁾ und Liefmann²⁾ haben unter dem Titel „Ueber die Beziehungen zwischen Säuglingssterblichkeit und Sommertemperatur“ und „Die Bedeutung sozialer Momente für die Säuglingssterblichkeit, nebst kritischen Bemerkungen zur Milchsterilisierungsfrage“ zwei lehrreiche Arbeiten veröffentlicht, die für unser soziales Leben wichtige Angaben bringen; es sei hierauf ganz besonders verwiesen.

Eine weitere, die Säuglingsernährung betreffende Arbeit ist F. A. Hess³⁾ zu verdanken, welcher „Ueber partiell abgerahmte Milch, die Verteilung der Bakterien in der Flaschenmilch und ihre Bedeutung für die Säuglingsernährung“ schrieb, und hier anschließend Eichholz⁴⁾ „Homogenisierte Säuglingsmilch“. Auch die Arbeiten von Weigmann, Huss und Wolff^{5) 6)}: „Einige Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis“ bringen interessante Aufklärungen über verschiedenartigen Geschmack (Ursachen und Wesen bitterer Milch) und mancherlei Abweichungen von normaler Milch.

Eine für die Biologie der Milch sehr wichtige Arbeit: „Beobachtungen über die Schardinger-Reaktion der Milch“ bringt Schern⁷⁾, indem er auf das Nichteintreten dieser später noch vielfach genannten Reaktion bei frischmilchenden Tieren hinweist, bei welchen einige Zeit lang die Reaktion im Gegensatz zu altmilchenden nicht eintritt. Gleichfalls auf dem Gebiete der Enzymforschung bewegt sich Grimmer⁸⁾: „Beiträge zur Kenntnis einiger Milchenzyme“, sowie Gabathuler⁹⁾: „Aus dem Gebiete der Milchhygiene, mit spezieller Berücksichtigung der Katalaseprobe zur Ermittlung kranker Milch“. Trommsdorff¹⁰⁾ bespricht dann in einer Arbeit „Zur Leukocyten- und Streptokokkenfrage der Milch“ die inzwischen mit seiner Probe gemachten Erfahrungen und geht hierbei auf die wirtschaftlich wichtige Frage, ob es berechtigt sei, die Ausschaltung solcher Milch vom Verkehr zu fordern, ein. Wie die meisten Tierpathologen, spricht auch er sich für die Ausschaltung der Milch von mit Streptokokkenmastitis behafteten Kühen aus.

Aus der Feder von H. E. Kersten¹¹⁾ stammt eine Arbeit, welche das Kaiserl. Gesundheitsamt veröffentlicht, „Ueber die Haltbarkeit der Diphtherie- und Paratyphus-B-Bacillen in der Milch“; aus derselben geht erneut hervor, daß beide Bakterienarten in der rohen Handelsmilch einen guten Nährboden finden. Rimpau¹²⁾ sehr verdienstvolle Zusammenstellung „Ueber die seit dem Jahre 1903 unter Mitwirkung des Reichs erfolgte systematische Typhusbekämpfung im Südwesten Deutschlands“ bringt, Kersten ergänzend, gleichfalls wichtige Angaben über die Verbreitungsmöglichkeit der Typhus- und Paratyphus-B-Bacillen durch Nahrungsmittel überhaupt und Milch im besonderen.

1) Willim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. p. 95.

2) Liefmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. p. 199.

3) Hess, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. 1909. p. 395.

4) Eichholz, Milchzeitung. 1909. No. 7.

5) Weigmann, Huss u. Wolff, Milchw. Zentralbl. 1909. H. 1. p. 2.

6) Wolff, Milchw. Zentralbl. 1909. p. 67.

7) Schern, Biochem. Zeitschr. 1909. p. 260—284.

8) Grimmer, Milchw. Zentralbl. 1909. p. 243 u. ff.

9) Gabathuler, Milchzeitung. 1910. No. 17/18.

10) Trommsdorff, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. No. 4.

11) Kersten, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. 1909. p. 34 u. ff.

12) Rimpau, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 41.

Hierher gehört auch die Arbeit von K. Poppe¹⁾, „Welche Anforderungen sind an die Gewinnung einer Milch zu stellen, welche roh an Säuglinge verabreicht werden soll“.

Um „über den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch“ ein tunlichst klares Bild zu bekommen, begann Rullmann²⁾ eine neue Reihe von Untersuchungen. Die in 7 Abschnitte zerlegte Arbeit berichtet im zweiten über vollkommen steril erhaltene Milchproben und deren Enzymgehalt; es war gelungen, unter 84 aseptisch entnommenen Proben deren 20 absolut keimfrei zu erhalten. Die wichtigsten Ergebnisse sind folgende: „Bezüglich des Enzymgehaltes wurde durch Untersuchung dieser 20 Proben ermittelt, daß Katalase, direkte Oxydase, Peroxydase, Schardinger-Enzym und Diastase originäre Bestandteile keimfreier Milch sind. Reduktase, Hydrogenase und Salolase sind in der Kuhmilch bakteriellen Ursprunges. Mehrfach wurden Mikrokokken-Stämme isoliert, welche in sterilisierter und keimfrei befundener Milch bei 37° C gleichzeitig Katalase und Reduktase bildeten. Es hat sich bei der Milch von euterkranken Kühen gezeigt, daß der Gehalt an Katalase, Schardinger-Enzym und Reduktase erhöht ist. Das Schardinger Reagens Methylenblauformalin wird auch durch künstlich sterilisierte keimfreie Milch in einer allerdings wesentlich längeren Zeit als durch keimhaltige Milch entfärbt. — Der anatomisch festgestellte Zusammenhang der seitlichen Zitzen ist auch durch die Beschaffenheit der Milchbefunde nachgewiesen. Bezüglich der Mastitisfrage ist aus dieser Arbeit folgendes hervorzuheben: „Die Trommsdorffsche Leukocytenprobe ist für die einzelnen Zitzen als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung der Streptokokkenmastitis sehr wertvoll. Der Euterentzündungsprüfer von Ernst (s. l. c. p. 74—75) ist jedem Landwirt zur leicht ausführbaren Kontrolle seines Stalles zu empfehlen. Hat sich bei der Leukocytenprobe durch Zentrifugieren ein überhaupt meßbares Sediment gezeigt, dann muß dessen mikroskopische Prüfung auf Streptokokken erfolgen. Die Anlage von Bouillonkulturen aus dem Zentrifugat ist zu empfehlen. Durch große Reinlichkeit und entsprechende Pflege ist auf dem Musterb. die Ausbreitung der Streptokokkenmastitis hintangehalten worden. Dieser Erfolg muß ein kräftiger Ansporn für alle Interessenten sein, um die Infektionskrankheit zu bekämpfen, bei welcher so große Werte auf dem Spiele stehen.“

Dankbar sei hier der Autoren gedacht, deren Veröffentlichungen außer schon früher erwähnten in vorstehender Arbeit zur Anregung dienten, so Wäntig³⁾, Fränkel⁴⁾, Bordas et Touplain⁵⁾, Siegfeld⁶⁾, Sommerfeld⁷⁾, Jorns⁸⁾, Seligmann⁹⁾, van Velde¹⁰⁾,

1) Poppe, Deutsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. 42. 1910.

2) Rullmann, Arch. f. Hyg. Bd. 73. 1910. p. 81 u. ff.

3) Wäntig, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1907. No. 26.

4) Fränkel, Wiesbaden (Bergmann) 1904. p. 46.

5) Bordas et Touplain, Comptes rend. de l'Acad. des Scienc. T. 148. 1904 p. 1057.

6) Siegfeld, Milchw. Zentralbl. 1909. p. 208.

7) Sommerfeld, Milchkunde. Wiesbaden (Bergmann) 1909.

8) Jorns, Arch. f. Hyg. Bd. 67. p. 144 u. ff.

9) Seligmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905. H. 1.

10) van Velde, Sommerfeld Milchkunde. 1908. p. 813 Tabelle.

Brudny¹⁾, R. Schneider²⁾, Pettersson³⁾, Jochmann⁴⁾, Plaut⁵⁾, Soxhlet-Henkel⁶⁾, Schardinger⁷⁾, Oppenheimer⁸⁾, Brand⁹⁾, Smidt-Müller¹⁰⁾, Bertrand¹¹⁾ sowie Burri und Allemann¹²⁾.

Eine weitere, sehr einschlagende Arbeit bieten Zwick und Weichel¹³⁾ auf diesem Gebiete durch ihre „bakteriologischen Untersuchungen über die Erreger der Mastitis acuta des Rindes mit besonderer Berücksichtigung der Beteiligung von sogenannten Fleischvergiftungserregern an der Entstehung der Krankheit.“ Die Hauptergebnisse hieraus sind: 1) Die akute parenchymatöse Euterentzündung wird in der Regel durch Bakterien aus der Coli-Aërogenes-Gruppe verursacht. 2) Die Untersuchungen bestätigten, daß die septische Euterentzündung durch Bakterien aus der Gruppe der Fleischvergiftungserreger hervorgerufen werden kann; die Bakterien können aber auch eine Euterentzündung hervorrufen, die nach ihrem Verlauf mit dem der gewöhnlichen Mastitis übereinstimmt. 3) Zur Verhütung einer Schädigung der Konsumenten ist die Milch von Tieren, die an einer akuten Euterentzündung leiden, vom Inverkehrbringen auszuschließen, wie dies bereits durch die meisten Polizeiverordnungen betreffs des Milchverkehrs geschehen ist.

Hieran schließt sich wieder Baehrs¹⁴⁾ Veröffentlichung: „Vorkommen und Bedeutung der Streptokokken in der Milch“. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind: 1) Nur in 2 Milchproben von 81 fand sich *Streptococcus pyogenes*. 2) In 75 Proz. aller Milchproben ließen sich nach Petruschkys Verfahren Kettenkokken nachweisen, die sich durch weitere Untersuchungen als identisch mit *Streptococcus lactis* Kruse erwiesen; in der ersten Bouillonkultur sahen sie bisweilen dem *Streptococcus pyogenes* zum Verwechseln ähnlich, ließen sich jedoch durch ihr morphologisches Verhalten und besonders durch die Neigung, bei eintretender Säurebildung Involutionsformen zu erzeugen, unterscheiden. 3) Wahrscheinlich gelangen diese Streptokokken durch den Kot in die Milch, und 4) unwahrscheinlich ist es, daß durch diese Streptokokken Säuglingen Schädigungen zugefügt werden können. 5) Der nicht ganz abzuleugnenden Gefahr, daß diese an sich harmlosen Streptokokken unter besonderen Bedingungen krankmachende Eigenschaften erwerben können, kann durch Vornahme des Melkgeschäftes in abgesonderten Melkräumen und sofortiges Abkühlen der Milch vorgebeugt werden.

Nun folgen wieder eine Anzahl von Arbeiten über Enzyme; Reinhard und Seibold¹⁵⁾ besprechen das „Verhalten der Schardinger-

- 1) Brudny, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1908. p. 193.
- 2) R. Schneider, Arch. f. Hyg. Bd. 70. 1909. p. 121 u. ff.
- 3) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 46. 1908. p. 405—408.
- 4) Jochmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61. p. 71.
- 5) H. C. Plaut, Arch. f. Hyg. Bd. 13. 1891. p. 133 u. ff.
- 6) Soxhlet-Henkel, Chem. Centralbl. Bd. 18. 1887. p. 229.
- 7) Schardinger, Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 5, 1902, p. 1113 u. ff.
- 8) Oppenheimer, Kgl. Inst. f. exp. Therap. Frankfurt a. M. 1908. p. 75.
- 9) Brand, München. med. Wochenschr. 1907. No. 17.
- 10) Smidt-Müller, Hyg. Rundsch. 1904. p. 1137.
- 11) Bertrand, Compt. rend. T. 124. 1897. p. 1032 u. ff.
- 12) Burri u. Allemann, Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmitt. 1909. p. 449.
- 13) Zwick u. Weichel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 34. p. 391 u. ff.
- 14) Baehr, Arch. f. Hyg. Bd. 72. p. 91—160.
- 15) Reinhard u. Seibold, Biochem. Zeitschr. Bd. 31. p. 294 ff.

Reaktion gegenüber Colostralmilch von Kühen“, Kooper¹⁾ bringt „Untersuchungen über Katalase“ und Trommsdorff²⁾ „über das Schardinger-Enzym“. Diesen reiht sich Rullmann³⁾ an mit erneuten Untersuchungen „über die Schardinger-Reaktion der Milch“. Während der Drucklegung der unter No. 62 im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeit dieses Verfassers waren mehrere neue Veröffentlichungen über die Schardinger-Reaktion erschienen, welche Rullmann zu weiteren Forschungen auf diesem Gebiete veranlaßten und dazu führten, gelegentlich gesammeltes Material hierbei zu verwenden. So waren es vor allen Dingen Bredig und Sommer⁴⁾, welche angaben, daß die Reduktion von Methylenblauformalin durch Metallkatalyse ein weiterer Beweis für die Möglichkeit der Mitwirkung anorganischer Körper bei der Schardinger-Reaktion sei und daß auch die anorganischen Fermente — die kolloidalen Metallösungen — eine in vieler Hinsicht gleiche Wirkung auf Schardinger-Reagens ausüben, wie das Enzym der keimfreien Milch. Dann waren auch die Arbeiten von Römer und Sames⁵⁾, Sames⁶⁾ erschienen und Rothenfusser⁷⁾ führte ein neues Enzymreagens ein; Gramenitzki⁸⁾ und Kulpsohn⁹⁾ veröffentlichten eine Mitteilung „über die eventuelle Regeneration der durch Erhitzen zerstörten Enzyme“ und Barillé¹⁰⁾ bespricht die durch Erhitzung der Milch stattfindende Entmineralisierung derselben. Auch die Arbeit von Nencki und Zaleski¹¹⁾ über Ammoniakbestimmung fand bei dieser Veröffentlichung des Verfassers ebenso wie alle zuletzt angeführten, Berücksichtigung zu eingehenden Versuchen. Nachstehend seien die hauptsächlichlichen Ergebnisse dieser Arbeit hervorgehoben: •

„Keimfreie und keimhaltige unerhitzte Milch sowie thermostabile Körper entfärben sowohl in Gemeinschaft als jeder für sich allein bei 45—50° C Schardingers Methylenblauformalin in wenigen Minuten. Bei Methylenblauformalin ist das Formaldehyd auch durch eine äquivalente Ameisensäuremenge zu ersetzen; diese letztere Lösung braucht jedoch fast stets wesentlich längere Zeit zur positiven Reaktion (Ausnahmen s. l. c. p. 470). Die Entfärbung dieser beiden Lösungen in sterilisierter Milch beruht auf der Einwirkung thermostabiler Körper. Das Alter resp. der Frischzustand der Milch scheint, sofern die Milch keimfrei bleibt, ohne Belang. Sterilisierter Milch zugesetzte kleine Mengen von NaOH, NH₃ und Phosphaten beschleunigen die Reaktion wesentlich, ganz besonders aber, wenn gleichzeitig Milchsucker zugefügt wurde. Milchsucker ohne Alkalizusatz hat nur geringe fördernde Wirkung. Reine Milchsuckerlösung ohne Alkalizusatz übt weder auf Methylenblauformalin noch Methylenblauameisensäure eine Einwirkung aus. Erhöhte Temperatur wirkt reaktionsfördernd. Durch Abstufung der Zusätze gelang es, die natürliche Grenze für dieselben zu finden, derart, daß Kontrollmilch ohne Zusätze

1) Kooper, Milchw. Centralbl. 1911. p. 264—270.

2) Trommsdorff, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1909. p. 291.

3) Rullmann, Biochem. Zeitschr. Bd. 32. 1911. H. 5/6.

4) Bredig u. Sommer, Zeitschr. f. physik. Chem. Jubelbd. p. 1—32.

5) Römer u. Sames, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmitt. Bd. 20. H. 1.

6) Sames, Milchw. Centralbl. 1910. H. 10.

7) Rothenfusser, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmitt. 1908. H. 1/2.

8) Gramenitzki, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 69. 1910. H. 3/4.

9) Kulpsohn, [Diss.] Petersburg 1908.

10) Barillé, A., Journ. de Pharm. et Chim. 1909. p. 90.

11) Nencki u. Zaleski, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 36. p. 385.

gleichzeitig mit den versetzten Proben entfärbte. Rohe unerhitzte, pasteurisierte, sterilisierte und aufgekochte Milch wirken sehr verschiedenartig bezüglich der zur Entfärbung erforderlichen Zeitdauer. Diese verschiedenartige Einwirkung dürfte einerseits durch die bei $+50^{\circ}\text{C}$ beginnende Entmineralisierung der Milch, dann durch die spätere Enzymschädigung und schließlich durch die bei noch höheren Temperaturen unvermeidliche Zersetzung der Eiweißkörper begründet sein. Sehr geringe Mengen von zugesetztem NH_3 , wie solche als Mittelzahl aus 9 verschiedenen Milchproben ermittelt worden sind, scheinen bedeutungslos zu sein. Die Untersuchungen von Römer und Sames haben bezüglich der Einwirkung anorganischer Fermente resp. thermostabiler Körper auf die Schardinger-Reaktion erhitzter Milch die gleichen Resultate ergeben. Bezüglich derselben Reaktion bei unerhitzter Milch aber stehen die vorliegenden Untersuchungen mit den ersteren leider in Widerspruch. Der von Sames erhobene Einwand, daß durch Zusatz von Basen zu gekochter Milch ein Rohzustand derselben vorgetäuscht werden könne, ist theoretisch begründet, dürfte aber für die Praxis hinfällig sein. Die Rothenfussersche Reaktionsmethode (an Stelle von Storchs Reagens) ist sehr genau und gibt noch Zusätze von 1 Teil Rohmilch zu 1000 Teilen gekochter Milch an. Die Beobachtungen von Gramenitzki und Kulpsohn haben, im vorliegenden Falle auf Milch übertragen, keine Regeneration der Enzyme ergeben.“

P. H. Römer¹⁾ hat dann in seiner Arbeit „zur Schardinger-Reaktion der Kuhmilch“ erneut auf das wechselnde Verhalten dieses Reagens gegenüber der Anfangs- und Endmilch hingewiesen und hält es nicht für ausgeschlossen, daß möglicherweise auch Rassenverschiedenheiten der Tiere hierbei eine Rolle spielen. Hoffentlich gelingt es den im Gange befindlichen erneuten Untersuchungen Römers endgültige Klarheit in diese Frage zu bringen.

Inwieweit Sauberkeitsmaßregeln und andererseits deren vollkommene Vernachlässigung beim Melken der Kühe auf die Entwicklung und Ausbreitung der Streptokokkenmastitis wirken, hat Rullmann²⁾ in seinen „Beobachtungen über die Ab- resp. Zunahme von Streptokokkenmastitis in Gehöften“ geschildert. Zwei größere Stallungen standen dem Verf. zu seinen Untersuchungen zur Verfügung. Der Stall auf dem Gute B, einer Musterwirtschaft, war nach den in Sommerfelds³⁾ Milchkunde angegebenen modernen Prinzipien gebaut und die in Kurzständen aufgestellten Tiere blieben infolgedessen bei der Defäkation immer sauber. In den Ställen selbst herrschte die größte Reinlichkeit in jeder Richtung, das Melkgeschäft wird durch erprobtes und auf seine eigene Gesundheit kontrolliertes Personal in einwandfreier Weise ausgeführt. Ferner kommen die Tiere im Sommer eigentlich nur zum Melken in die Ställe und sind auch bei schlechtem Wetter und im Winter täglich mindestens einmal im Freien. Dagegen waren die Ställe auf dem Gute F wohl auch hoch, hell und luftig, auch hier erscheinen die Tiere im allgemeinen als sauber und wohlgepflegt, es fehlen aber die modernen Einrichtungen für Defäkation, das Melkpersonal macht keinen guten

1) Römer, P. H., Biochem. Zeitschr. 1912. H. 1/2.

2) Rullmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1911. p. 500 ff.

3) Sommerfeld, Milchkunde. p. 515 ff.

Eindruck und das Melken wird nicht wie auf dem Gute B mit jener weitgehenden Vorsicht vorgenommen, so daß die Melker beim Ausmelken der Kühe ohne jegliches Abseifen der Hände von einem Tiere auf das andere übergehen. Die Tiere mit ausgesprochener Streptokokkenmastitis stehen neben den noch nicht infizierten Kühen, so daß bei solcher Sorglosigkeit eine Uebertragung in kürzester Zeit nicht ausbleibt. Während die Untersuchungen auf dem erstgenannten Gute B ausgezeichnete Resultate ergeben hatten, welche ein Beweis für die daselbst ausgeübte Stallhygiene sind, war auf dem Gute F gerade das Gegenteil der Fall. Wie bei Gut B geschehen, sollte auch auf Gut F eine Nachprüfung nach $\frac{3}{4}$ Jahren stattfinden; der von dieser Absicht in Kenntnis gesetzte Besitzer schrieb aber, „daß er im Laufe der letzten Monate alle Tiere mit einer einzigen Ausnahme wegen ständig sich steigernder Agalaktie und damit verbundenem großen Milchverluste verkauft habe, da bei den meisten Tieren einzelne und auch mehrere Zitzen verodet seien und deswegen sei der ganze Bestand geändert worden“. Jedenfalls geht aus diesen Zeilen mit Sicherheit hervor, daß der Verkauf des ganzen Bestandes eine Notwendigkeit war. Nach einiger Zeit kam auf demselben Gute F der neue Bestand zur Untersuchung, worauf genau $\frac{1}{4}$ Jahr später eine abermalige Prüfung stattfand; die im Original nebeneinander gestellten schlechten Ergebnisse beweisen, in welcher weitgehender Weise erneut die Verseuchung auf diesem Gute in so kurzer Zeit fortgeschritten ist. Daß hier allein die unglaubliche Achtlosigkeit beim Melken, das Nichtbefolgen hygienischer Maßnahmen mangels jeglicher Vorsicht schuld ist, dürfte unbestreitbar sein. Das sich hier bietende Streptokokkenmaterial wurde nach Fromme¹⁾ zu Einsaaten in Lecithinbouillon benutzt, um nach diesem Forscher Studien zur Differenzierung pathogener und saprophytischer Streptokokkenstämme anzustellen, wobei auch die gegnerischen Anschauungen von Traugott²⁾, Bürger³⁾, Thalmann⁴⁾ u. A. berücksichtigt wurden. Bei den erzielten Resultaten würden sich nach Fromme in zwölf Fällen virulente Streptokokken ergeben haben; Verf. unterläßt es aber bei dieser immerhin geringen Anzahl von Versuchen ein Urteil abzugeben.

Zeitlich sich hier anschließend folgen Puppel⁵⁾ „Ueber die Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl“, Weigmann und Wolff⁶⁾ „Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis“ und Yoischiro Saito⁷⁾ „Versuche zur Abgrenzung des Streptoc. acidilactici von Streptoc. pyogenes“. Auch die Enzymforschungen gehen immer weiter, so bringt A. Groeger⁸⁾ „Die wichtigsten Enzymreaktionen zur Unterscheidung roher und gekochter Milch unter besonderer Berücksichtigung der Schardinger-Reaktion“ und Weigmann⁹⁾ berichtet „Ueber die Brauchbarkeit der Guajak tinktur zum Nachweise einer ausreichenden Pasteurisierung“. — C. Amberger¹⁰⁾ hat dann „Die anormale Milch bei Euterentzündung“

1) Fromme, Centralbl. f. Gynäkol. 1909/10.

2) Traugott, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 66.

3) Bürger, Centralbl. f. Gynäkol. 1910. No. 18.

4) Thalmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 248 ff.

5) Puppel, Zeitschr. f. Hyg. 1911. p. 449—496.

6) Weigmann u. Wolff, Milchwirtsch. Zentralbl. 1912. H. 1/5.

7) Saito, Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912. p. 121—134.

8) Groeger, [Dissert.] Leipzig-Borna 1911.

9) Weigmann, Milchwirtsch. Zentralbl. 1912. H. 2.

10) Amberger, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmitt. 1912. p. 369 ff.

zu einer Spezialarbeit verwendet, dem sich in allerneuester Zeit H. Steng¹⁾ mit „Die Milch brünstiger Kühe“ anschließt. Bei der erstgenannten Arbeit resultiert, daß bei derartigen Eutererkrankungen gerade die als konstant geltenden Milchbestandteile am meisten verändert werden und für den Nahrungsmittelchemiker folgt, daß nie von einem Tag zum anderen die abnorme Sekretbildung aufhört, wohl aber, daß innerhalb weniger Tage noch innerhalb der Stallprobenzeit die Größe der fettfreien Trockensubstanz durch anormale Zustände im Euter ganz wesentlich beeinflußt werden kann. Stengs Arbeit ergibt: „daß die Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Milch brünstiger Kühe gegenüber derjenigen von nichtbrünstigen nachgewiesen werden könne und sollte Brunstmilch nicht als Säuglingsnahrung verwendet werden. Es ergaben ferner Versuche die Möglichkeit, daß durch Brunstmilch bei Säuglingen Erkrankungen in Form der Dyspepsie ausgelöst werden und ist es wahrscheinlich, daß dabei Toxine (Ovariotoxine) mit im Spiel sind. Dann sollten Abmelkwirtschaften von der Kindermilchproduktion ausgeschlossen sein.“

Vorhergehen Salus²⁾ mit: „Untersuchungen zur Hygiene der Kuhmilch“ und Barthel u. Jensen³⁾ „Ueber internationale Methoden zur Beurteilung der Kuhmilch“. Auch Trommsdorff⁴⁾ spricht sich in seinem Berliner Vortrage „Ueber den gegenwärtigen Stand der Mastitisfrage in ihrer Beziehung zur Milchhygiene“ aus und sagt in seinen Leitsätzen: „alle Milch aus Eutern mit akut entzündlichen Prozessen ist vom Milchverkehr fernzuhalten; dasselbe gilt von der Milch aus tuberkulösen Eutern. Bei Streptokokkenmastitis dürfen wir wegen ihrer enormen Verbreitung und der damit verbundenen wirtschaftlichen Bedeutung der Mastitisfrage zurzeit damit zufrieden sein, wenn die Milch merklich erkrankter Viertel aus dem Verkehr ausgeschaltet wird; immerhin muß auch hier an der Forderung festgehalten werden, daß die Milch nur als absolut einwandfrei zu betrachten ist, wenn sie aus vollständig gesunden Vierteln gesunder Tiere ermolken ist. — Zur schnelleren und sicheren Auffindung von mit Streptokokkenmastitis behafteten Tieren empfiehlt sich am meisten die Trommsdorffsche Leukocytenprobe mit nachfolgender mikroskopischer Untersuchung nach Ernst (s. l. c.)“.

Außer der von Trommsdorff zur Begründung vorstehender Leitsätze herangezogenen Literatur, kann auch noch eine ältere Arbeit von Rabinowitsch-Kempner⁵⁾ und eine neue von Rabinowitsch⁶⁾ auf Orth's⁷⁾ Vortrag basierende hier genannt werden. Der damals von Orth eingenommene Standpunkt ist in einem in diesem Jahre gehaltenen Vortrage, in welchem Orth⁸⁾ mit aller Energie gegen den Typus bovinus vorzugehen auffordert, noch verschärft worden.

Es erübrigt jetzt, nur noch einige Arbeiten aus der allerneuesten Zeit anzuführen; so die Veröffentlichung von Hugo Kühl⁹⁾: „Die Milchversorgung der Städte“. Er fordert im Interesse der Tiere selbst luftige, saubere Ställe und als Viehstreue nur sauberes, nicht muffig riechendes

1) Steng, Arch. f. Hyg. Bd. 78. 1913. H. 6.

2) Salus, Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912. p. 359 ff.

3) Barthel u. Jensen, Milchwirtsch. Zentralbl. 1912. p. 417.

4) Trommsdorff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 66. 1912. H. 7. p. 505 ff.

5) Rabinowitsch-Kempner, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. 1899.

6) Rabinowitsch, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 16.

7) Orth, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 16.

8) Orth, Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 10.

9) Kühl, H., Zeitschr. f. öffentl. Chem. Bd. 18. 1912. p. 286.

Material zu wählen, ferner das Vieh rein halten, das Euter vor dem Melken sauber abwaschen und darauf achten, daß die Melker mit reinen Händen an ihr Geschäft gehen. Dann sind die ersten Striche beim Melken nicht aufzufangen, saubere Melkeimer zu verwenden und die durchgeseihte Milch sofort tunlichst tief zu kühlen, sowie das Milchvieh tierärztlicher Kontrolle zu unterstellen und krankes Vieh auszuscheiden.

Daß auch in England die Milchhygiene eingehend bearbeitet wird, beweist die eben erschienene Veröffentlichung: Reports to the Local Government Board on Public Health and Medical Subjects¹⁾, welche in ihrer neuen Serie No. 76 „Biological Properties of Milk, both of the Humans species, and of Cows, considered in Special Relation to the Feeding of Infants“ bringen. Die mit außerordentlich reichen Literaturangaben versehene englische Zusammenstellung bringt eine Rekapitulation der meisten hier angeführten deutschen Arbeiten.

Den Schluß der Neuerscheinungen bringt A. Splittgerber²⁾ „Ueber den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von den Peroxydasen, Katalasen und Reduktasen der Milch“. In dieser sehr verdienstvollen Arbeit ist wohl alles wichtige über unsere jetzigen Kenntnisse der Enzyme gebracht, so daß alle Interessenten im Originale das Wissenswerte finden werden. Mit welchem Fleiße allein auf dem Enzymgebiete gearbeitet worden ist, geht aus den angeführten ca. 250 Literaturangaben hervor, von welchen allerdings manche mehrmals zitiert werden. Auch sei noch auf Grimmer³⁾ verwiesen, welcher alljährlich, so auch jetzt wieder einen Bericht über die Arbeiten auf dem Gebiete der Milchchemie gebracht hat.

Zum Ende dieser Zusammenstellung kommend, kann wohl gesagt werden, daß die letzten 12 Jahre uns über das wichtigste und allgemein am meisten verwendete Nahrungsmittel „die Milch“ eine ansehnliche Erweiterung unserer Kenntnisse gebracht haben und daß die milchhygienischen Untersuchungen heutigen Tages ein wichtiges Arbeitsgebiet der Hygiene darstellen. Viele theoretische Aufgaben aber sind immer noch zu lösen und der praktischen Tätigkeit der maßgebenden Organe bleibt es vorbehalten, die bereits gewonnenen Ergebnisse zum Nutzen des milchkonsumierenden Publikums anzuwenden.

Darmstadt, den 20. April 1913.

Während der Drucklegung dieser Arbeit gelangten noch einige Veröffentlichungen zur Kenntnis des Verfassers, die zur tunlichsten Vollständigkeit mitgeteilt werden sollen.

So berichtet E. Seibold⁴⁾ „Ueber den Keimgehalt unter aseptischen Kautelen gewonnener Milch und deren Bedeutung für die Praxis“. Seine Ergebnisse faßt er in folgende Sätze zusammen: 1) Eine absolut keimfreie Milch läßt sich in der Praxis nur unter ganz besonders günstigen Verhältnissen gewinnen. 2) Die Anwendung von sterilen Melkröhrchen nach vorheriger Reinigung und Desinfektion des Euters bietet am meisten Aussicht, eine keimfreie Milch zu erhalten. 3) Die

1) London 1913. Publis had by His Majestys Stationary office.

2) Splittgerber, Pharm. Zentralhalle. 1912. No. 46/51.

3) Grimmer, Milchwirtsch. Zentralbl. 1913. H. 6.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 301 u. ff.

Keimzahl der mittels Melkröhrchen gewonnenen Milch schwankte zwischen 0 und 12. Diese Methode ist somit für die Milchentnahme am empfehlenswertesten. 4) Weniger günstige Resultate gibt das Melken nach der Reinigung und Desinfektion des Euters; hierbei schwankte die Keimzahl zwischen 0 und 85. Auch die Methode kann für die Praxis noch gute Resultate liefern. 5) Bei bloßer Reinigung des Euters mit Seifenwasser war die Grenze der Keimzahlen 0 und 434; demnach nicht zu empfehlen. 6) Für alle bakterioskopischen Untersuchungen des Zentrifugenbodensatzes auf die eine Euterentzündung verursachende Bakterienart genügt die Entnahme der Milchproben nach sorgfältiger Reinigung des Euters mit Seifenwasser. 7) Zur Diagnose der chronischen Streptokokkenmastitis genügt die bakterioskopische Untersuchung des Sekretes in vielen Fällen nicht. Es muß vielmehr das Plattengußverfahren angewendet werden. Die Leukocytenprobe nach Trommsdorff ist aber eine wichtige Vorprobe zur Ermittlung von Streptokokkenkühen.

Ferner sind noch zu nennen Hempel¹⁾: „Ueber die Gewinnung einwandfreier Milch für Säuglinge, Kinder und Kranke“; dann Kuntze²⁾: „Gewinnung keimfreier Milch“; Plehn³⁾: „Gewinnung und Vertrieb hygienisch einwandfreier Milch“; Schroeder⁴⁾: „Ueber Einfluß der Kühlung auf die Haltbarkeit und den Keimgehalt der Milch“; Mogendorff⁵⁾: „Die Milchuntersuchung vom tierärztlichen Standpunkte aus“; Mezger, Fuchs und Jesser⁶⁾: „Beiträge zur Kenntnis der Einzelkuhmilch“; Seel⁷⁾: „Vergleichende Untersuchungen der Milch bei Euterentzündungen der Kühe“; Lenzen⁸⁾: „Ueber die Bedeutung und den praktischen Wert der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden der Milch“; Knüsel⁹⁾: „Studien über die sogenannte sterilisierte Milch des Handels“; Kolles¹⁰⁾ Milchhygienische Untersuchungen sind dagegen schon in weitesten Kreisen bekannt.

Nun erschien in allerletzter Zeit von M. v. Gruber¹¹⁾ eine sehr wichtige Arbeit von hervorragender Bedeutung: „Ueber Typhuserkrankungen in München durch eine Bacillenträgerin aus Freising“. Da über diese Veröffentlichung in Bälde ein eingehendes Referat im Centralblatt für Bakteriologie erscheinen wird, so sei hier nur darauf verwiesen, daß eine Bacillenträgerin jahrelang, ohne je an Typhus erkrankt gewesen zu sein, rohe Milch mit Typhuskeimen infizierte und im Laufe von 5 Jahren etwa 150 Typhuserkrankungen hervorrief. Unter Zugrundelegen der Morbiditätsziffern ist zu ersehen, daß in ganz bestimmten Straßenzügen Münchens massenhafte Typhuserkrankungen im Laufe von 5 Jahren auftraten, während die übrige Stadt verschont blieb. Nach langen Untersuchungen, die Gelegenheit zur eingehenden Differenzierung des Metatyphus vom normalen Typhusbacillus gaben, gelang es, diese Bacillenträgerin in Freising zu ermitteln. Es war fest-

1) Hempel, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 300.

2) Kuntze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. p. 420.

3) Plehn, Milchzeitung. 1905.

4) Schroeder, Dissert. Tierärztl. Hochschule Dresden. 1908.

5) Mogendorff, Dissert. Universität Bern. 1909.

6) Mezger, Fuchs u. Jesser, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 19. 1910. Heft 12.

7) Saal, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 20. 1911. Heft 3.

8) Lenzen, Verlag Otto Nemnich. Leipzig 1911.

9) Knüsel, Verlag Richard Schötz. Berlin.

10) Kolle, Klin. Jahrb. Bd. 13. 1904.

11) v. Gruber, M., Arch. f. Hyg. Bd. 80. 1913. Heft 1—6. p. 272.

gestellt worden, daß alle konsumierte Milch, welche Typhuserkrankungen hervorgerufen hatte, aus dem Oekonomieanwesen stammte, in welchem die betreffende Person als Melkerin, aber auch als Wäscherin seit 1902, zu welcher Zeit die ersten Erkrankungen auf dem mit Brauerei verbundenen Anwesen auftraten, stammte. Nach Verbot des Verkaufes der hier produzierten Milch kamen keine weiteren Typhuserkrankungen in dem betreffenden Stadtteile mehr vor.

Das eingehende Studium dieser Aufsehen erregenden Veröffentlichung ist sehr zu empfehlen; v. Gruber schließt mit einer erneuten Warnung vor dem Genuß von Rohmilch unter Empfehlung von pasteurisierter Milch als Volksgetränk. Diese Arbeit wird auf dem Gebiete der Ermittlung von Infektionsmöglichkeiten ein wichtiger Wegzeiger sein.

Darmstadt, 18. Juli 1913.

Rullmann.

Nachdruck verboten.

Einige durch Trypanosomiasis Dromedarii erzeugte Läsionen.

[Aus der R. Scuola di Sanità Militare Marittima zu Neapel.]

Von Dr. **Mario Battaglia**,

Dozenten für pathologische Anatomie und Histologie an der Kgl. Universität Neapel, Oberstabsarzt in der Kgl. Marine.

In Tripolis erhielt ich im April 1912 von Dr. Pricolo ein Meer-schweinchen mit experimenteller Trypanosomiasis, das mit dem von Pricolo in Kamelen gefundenen *Trypanosoma dromedarii* geimpft worden war. Herrn Dr. Pricolo, der mir die Möglichkeit gegeben, meine Untersuchungen über die Trypanosomen auch an dieser Species, die eine Abart des *Trypanosoma Evansi* zu sein scheint, fortzusetzen, spreche ich hier meinen herzlichsten Dank aus.

Im Jahre 1910 erhielt ich bei Versuchen mit dem *Trypanosoma Brucei*, das ich unter Skarifikation in die Genitalien von Kaninchen einimpfte, konstant ein ulzerierendes Granulom, wie ich (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. H. 4; Bd. 47. 1908. H. 3; Bd. 49. 1909. H. 3; Bd. 67. 1912. H. 3) mitteilte.

Aus meinen Untersuchungen an trypanosomiasiskranken Tieren mit verschiedenen Trypanosomen (*Trypanosoma vespertilionis* [Battaglia], *Trypanosoma Lewisi*, *Trypanosoma Brucei*) und aus einigen von mir im Blute von Syphiliskranken, namentlich in schlecht behandelten Fällen, und mit den sogenannten tertiären Läsionen erhobenen Befunden vermutete ich schon seit längerer Zeit, daß das *Treponema* eine Phase eines noch nicht ganz bekannten Protozoon sei und im Jahre 1908 veröffentlichte ich in den *Annali di Med. Nav. e Colon.* Vol. 2. p. 96 eine vorläufige Mitteilung über diese meine Untersuchungen. Nun zeigen die Arbeiten von Ross, daß im Blute der Syphilitiker die sogenannten Kurloffschen Einschlußkörper eine Entwicklungsphase des *Treponema* sind (The British med. Journ. Dec. 1912). Jennings bestätigt in Lancet p. 1655 diese Beobachtungen und Mac Donagh macht in Lancet 1912 wichtige Mitteilungen über den

Gegenstand, indem er zeigt, daß sich dieses Protozoon der Syphilis mit beweglichen runden Körpern und Geißelkörpern, mit echten Mikrogameten und Makrogameten entwickelt, derart nämlich, daß die sogenannte Spirochaete nichts anderes als der Mikrogamet dieses Protozoon wäre.

Durch dieses Aufeinanderfolgen von Untersuchungen und durch den Zweifel, der mir bereits im Jahre 1907 aufgestiegen war, als ich unbestimmte und neue identische Formen, sowohl im Blute der Syphilitiker wie im Blute der Tiere mit experimenteller Trypanosomiasis kreisend, beobachtete, studiere ich bereits seit geraumer Weile diesen so wichtigen Gegenstand, indem ich meine im Jahre 1903 über die Trypanosomen unternommenen Untersuchungen fortsetze. Als ich dieses neue Trypanosom, *Trypanosoma dromedarii*, erhielt, habe ich auch bei diesem die verschiedenen, von mir bei den übrigen Trypanosomen beschriebenen Phasen einwandfrei nachgewiesen, und auch dieses Trypanosom vermehrt sich durch Schizogonie und Sporogonie, und die Tatsache selbst, daß ich es nunmehr seit $1\frac{1}{2}$ Jahren virulent erhalte, indem ich es von Tier durch Tier schicke, ist eine der vielen biologischen Beweise für seine Vermehrung durch Sporogonie.

Mit diesem neuen Trypanosom habe ich auch an den Genitalien der Kaninchen Versuche anstellen wollen und mit einer dünnen, kanülierten Nadel, einer gewöhnlichen Pravaz-Spritzennadel, die in an *Trypanosoma dromedarii* reiches Blut getaucht worden, skarifizierte ich selbstverständlich unter größtmöglicher Asepsis das Praeputium der Kaninchen. Nach 4 Tagen tritt an der Stelle der Skarifikation ein hartes Oedem auf, das allmählich zunimmt; innerhalb von 8 Tagen beginnt der Schorf und auf diesen folgt dann eine Ulzeration, wodurch sich ein echtes, hartes Granulom bildet.

Von Wichtigkeit ist, daß schon vom 2. Tage nach der Skarifikation an im kreisenden Blut die intra- und extraglobuläre Amöbenform des *Trypanosoma dromedarii* auftritt. Am 8. Tage, wo die lokale Läsion ulzerierend ist, sind im kreisenden Blut die vollständigen Formen des Trypanosoms selten, während die runden und die birnenartigen Formen reichlich vorhanden sind; dagegen sind in der Läsion und dem Oedem der Genitalien die vollständigen Formen zahlreich.

Dieses ulzerierende Granulom ist bei dieser Trypanosomiasis begleitet von einem Oedem am Scrotum und von einer wahren Orchitis, wodurch bei den Kaninchen die Hoden in die Augen fallender sind und sich vergrößern. Diese Erscheinung ist bei der homologen Läsion durch Skarifikation mit Tierblut mit *Trypanosoma Brucei* selten.

Erwähnen muß ich, daß die Infektion mit *Trypanosoma dromedarii* bei Kaninchen auf recht besondere Weise verläuft: Die Kaninchen bekommen nämlich die Infektion, auf welche Weise sie auch immer geimpft werden mögen; in den ersten Tagen weisen sie seltene vollständige Formen des Trypanosoms im kreisenden Blute auf und dann werden diese vollständigen Formen nicht mehr beobachtet; indessen wirkt ihr Blut immer infizierend, und die Tiere werden nach und nach kachektisch und sterben unausbleiblich auch nach 7 oder 8 Monaten.

Auch bei diesem *Trypanosoma* wird nur an den Genitalien der Kaninchen bei Einimpfung durch Skarifikation dieses harte, ulzerierende Granulom erhalten; bei Einimpfung an einer anderen Stelle oder in andere Tiere wird diese Primärläsion nie beobachtet, wie es nach meinen Versuchen eben bei dem *Trypanosoma Brucei* der Fall ist; wenigstens

kann ich dies vorläufig nach meinen zahlreichen Versuchen behaupten. Es dürfte unnütz sein, zu erwähnen, daß das Sekret dieses ulzerierenden Granuloms der Genitalien der Kaninchen reich an *Trypanosoma dromedarii* ist und wie das Blut der Tiere ebenfalls infizierend wirkt.

Keratitis durch *Trypanosoma dromedarii*.

Bei Kaninchen und Hunden mit vorgeschrittener experimenteller Trypanosomeninfektion wird selten Keratitis beobachtet. Auch bei dieser experimentellen Trypanosomiasis wird im Verlauf der Infektion zunächst Trübung der Hornhaut und dann eine echte parenchymatöse Keratitis beobachtet, doch ist diese Alteration seltener als bei der Trypanosomiasis durch *Trypanosoma Brucei*.

Neapel, Juli 1913.

Nachdruck verboten.

Trichomonas aus der Leber der Tauben.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Kgl. Ungar. Tierärztl. Hochschule zu Budapest.]

Von Prof. Dr. Stephan von Rátz.

Die Trichomonaden sind im allgemeinen birnenförmig; ihr Körper ist vorne abgerundet, rückwärts zugespitzt. Am vorderen Körperende besitzen sie drei sich lebhaft bewegende Geißeln von gleicher Länge, die oft zusammenkleben und dadurch scheinbar eine einzige Geißel darstellen. Am Fuße der Geißel befindet sich der Blepharoplast, welcher mit dem ovalen Kern durch eine feine Fibrille, durch den Rhizoplast, in Verbindung steht. Außerdem ist noch eine vierte Geißel vorhanden, welche nach Bensen (1) mit dem in der unmittelbaren Nähe des Blepharoplastes liegenden Basalkorn zusammenhängt, am Saume der am Körper schief liegenden undulierenden Membran nach rückwärts verläuft und nur höchstens am Körperende auch frei sichtbar ist. Der Kern befindet sich in der Nähe des vorderen Pols in das Protoplasma, ist von ovaler Form und besteht aus einem achromatischen Gerüst mit Chromatineinlagerungen. Die Struktur des Kernes ist jedoch nach den neueren Untersuchungen nicht so einfach, wie es von früheren Autoren angegeben wurde. Bensen konnte am Kerne des *Trichomonas vaginalis* Donné eine dunkle Membran unterscheiden, durch welche derselbe von dem umliegenden Protoplasma geschieden ist, um diese sah er auf einer oder beiden Seiten einen halbmondförmigen, dunklen Hof¹⁾. Im Innern des Kernes befindet sich ein von einem hellen Hof umgebenes Karyosom, von diesem geht nach rückwärts der Achsenstab aus, welcher gegen die am Saume der undulierenden Membran verlaufende Geißel zieht, diesen bei deren lebhafter Bewegung einigermaßen als Stützpunkt dient, vorne

1) Die Brumpt'sche Abbildung der *Trichomonas* aus Mäusen stellt diesen Hof als kürzere oder längere, mit der Abrundung der äußeren Körperfläche parallel verlaufende Streifen, als Unterstützungsrippen dar, jedoch nur auf der einen Seite des Kernes.

aber durch Vermittlung einer feinen Fibrille, des sogenannten Rhizoplasts, mit dem Blepharoplast zusammenhängt. Die Kernstruktur einiger Arten ist noch komplizierter, indem an der Stelle, wo der Rhizoplast und der Achsenstab vom Kern austreten, je ein kleines Körnchen erkennbar ist, welche mittels eines Chromatinfadens in Verbindung stehen. Hinter dem Kern befindet sich in dem granulierten Protoplasma eine, stellenweise auch mehrere Nahrungsstoffvakuolen; pulsierende Vakuolen scheinen unter diesen nicht zu sein.

Dobell konnte gelegentlich des Studiums der Vermehrung der in den Fröschen schmarotzenden *Trichomonas batrachorum* Perty beobachten, daß das Protoplasma nach der Teilung der undulierenden Membran, des Blepharoplasts, des Kernes und der Geißeln sich teilt, wodurch zwei junge Individuen entstehen. Diesem gegenüber hatten die Untersuchungen von Schaudinn und v. Prowazek (8) festgestellt, daß das Tier sich auch durch Konjugation vermehren kann, in welchem Falle die sich zur Konjugation vorbereitenden Individuen ihre Geißeln abwerfen, Amöboidformen annehmen, manchmal sogar auch stumpfe Pseudopodien erhalten. Während der Konjugation kommt eine gänzliche Verschmelzung der zwei Individuen zustande, wonach dieselben eine Schleimhülle absondern; ein Teil der Kernsubstanz wird dann aus jedem Kern ausgeschieden, die zwei Kerne verschmelzen und zergliedern sich aber nachher auf die Kerne der einzelnen durch Teilung entstandenen jungen Individuen.

In jüngster Zeit befaßte sich Bensen mit der Untersuchung der Vermehrungsfrage, und indem er die Beobachtungen von Schaudinn und v. Prowazek (9) bestätigte, ergänzte er dieselben mit neuen Angaben.

Die Trichomonaden sind sehr häufig im Darmkanal der Wirbeltiere vorhanden und befinden sich außer beim Menschen auch in Affen, in verschiedenen Fleischfressern, Nagetieren, Vögeln, Schlangen, Eidechsen, Fröschen, sogar auch bei den wirbellosen Tieren (*Blatta*). In den Körper des Wirttieres gelangen dieselben mit dem Wasser und den Nahrungsstoffen. Möglicherweise können sie auch mit der Luft in eingekapseltem Zustande eindringen, nachdem sie zeitweise auch in der Lunge anzu-treffen sind.

Bis jetzt wurde besonders die beim Menschen bekannte *Trichomonas hominis* Davaine und *Tr. vaginalis* Donné, die in Fröschen lebende *Tr. batrachorum* Perty und *Tr. lacertae* Bütschli eingehend studiert, dagegen wurde den in Vögeln und anderen Tieren parasitierenden Formen geringes Augenmerk gewidmet, infolgedessen ist es heute noch als unentschieden zu betrachten, ob die mit mannigfaltigen Speciesnamen bezeichneten Formen auch tatsächlich selbständige Arten vertreten, um so weniger, indem dieselben hinsichtlich ihrer morphologischen Eigenschaften sehr geringe Unterschiede aufweisen, die biologischen Eigenschaften aber noch weniger bekannt sind.

Nach den Untersuchungen Brumpt's (4) gelingt das Uebertragen einzelner Gattungen von einem Tier auf das andere ganz leicht, besonders vom Affen zum Affen, sogar auch vom Affen zum Schwein. Die Trichomonaden leben in der Mundhöhle, im Magen, in den Gedärmen, Gallengängen, in der Lunge, Blase und Scheide der Wirttiere.

Bei Tauben kommt nicht selten die *Trichomonas columbae* Rivolta (10) vor, deren Länge nach seinem Beschreiber 6—7 μ , die Breite 3 μ beträgt; dieselbe ist oval geformt oder an der Mittellinie eingeschnürt, in letzterem Falle ist das eine Ende des Körpers etwas mehr abgestumpft; besitzt 4—5 Geißeln, von welchen 1—2 die übrigen an Länge weit übertreffen, und an dem einen Körperende sich befinden. Rivolta fand diese Flagellaten in großer Menge bei 4 Tauben in den Dünndärmen und schreibt die in denen vorhandene Entzündung ihnen zu; diese Annahme ist um so weniger als unwahrscheinlich zu betrachten, nachdem es auch von der *Trichomonas caviae* Davaine bekannt ist, daß obzwar dieselbe ihren Wirt, das Meerschweinchen, in der Regel nicht beschädigt, weil sie sich nur im Lumen der Dickdärme aufhält — ausnahmsweise aber, wie dies auch Galli-Valerio (6) beobachten konnte, wandert dieselbe doch in die Darmwand und verursacht Veränderungen, die in der Folge tödlich enden.

Victor Babes (1) fand den Parasiten von 20 Tauben bei 3, in einem Falle sogar in großer Menge.

In Budapest sah ich dieselben im Mundschleim junger Tauben selbst öfter.

Ebenfalls Rivolta (10) war es, der 1878 in der Leber einer jungen, im Nest zugrunde gegangenen Taube eine mit Gewebsnekrose verbundene, von ihm als „käsige“ bezeichnete Entzündung beobachtete und im Gewebsdetritus zahlreiche, sich lebhaft bewegende Infusorien sah, deren Länge 6—8 μ , die Breite 5 μ betrug, mit ovaler oder rundlicher Form, mit 1—2 Geißeln bewaffnet, das Protoplasma sah granuliert aus, in demselben waren zwei Kerne, Vakuolen und eine quer verlaufende Linie zu erkennen. Die Bewegung der Infusorien bestand in schneller Rotierung oder in Vorwärtsschreiten nach seitwärts oder in gerader Linie nach vorwärts. Manche standen bewegungslos. Nach 28 Stunden, seitdem die Taube verendet war, bewegten sich noch einige in der aus den käsigen Knoten entnommenen Substanz, die meisten jedoch waren einer rundlichen oder ovalen Zelle ähnlich geworden, in welcher Vakuolen und an einer Seite eine quer liegende Geißel sichtbar war. Nach 48 Stunden schienen fast sämtliche ohne Leben, bewegungslos.

Rivolta bezeichnete diesen Protozoen mit dem Namen *Cercomonas hepatica*, über welchen ich seit dieser Zeit in der Literatur keine Erwähnung vorfand, bzw. wurde ein neuerer Fall der durch denselben verursachten Krankheit bis zur letzten Zeit nicht beobachtet.

Jowett (7) sah 1907 in Cape-Town in der Leber von 2 Wochen alten Tauben eine Leberentzündung identischer Natur, wie Rivolta, aus den nekrotischen Herden konnte er die *Cercomonas hepatica* nachweisen, welche er als einen 5—7,8 μ großen, mit 1—2 Geißeln bewaffneten, beweglichen Flagellaten bezeichnet. Jowett hat diese Protozoen nicht näher beschrieben, die zu der Mitteilung beigefügte Abbildung jedoch stellt dieselben als birnenförmige, ovale oder unregelmäßig rundliche Zellen dar, an deren einem Ende 1—2 lange Geißeln sich befinden, hinter diesen aber ein kernähnliches, dunkles Körnchen sichtbar ist. Einige der Figuren stellen auch solche Gestalten dar, in welchen 2, in einem sogar 4 dunklere Körnchen und in einem eine lichte Vakuole erkennbar ist.

Im Frühjahr 1908 verendeten im Dachraum des unter meiner Leitung stehenden pathologisch-anatomischen Institutes der tierärztlichen Hochschule im Taubenhaus zwei junge, zum Teil noch flaumige Tauben;

bei der Obduktion erwies sich als Todesursache jene sonderbare Lebererkrankung, welche Rivolta mit dem Namen „käsige Leberentzündung“ der Tauben bezeichnete.

Die Obduktion hat folgende besondere Veränderungen festgestellt:

Die vergrößerte Leber haftet an mehreren linsen- bis hellerstückgroßen Stellen mittels gelblichen, saftreichen, zerreißen Membranen an der Bauchwand und an der Leberkapsel sind stellenweise grau-gelbe oder kanariengelbe, saftreiche Pseudomembranen von lockerer Konsistenz vorhanden. Die Oberfläche der Leber ist uneben und bunt gestaltet, mit zahlreichen hirsekorn- bis hellerstückgroßen, unregelmäßig rundlichen, ein wenig über die Oberfläche erhabenen, graugelben, gut umschriebenen Herden; sonst ist die Leber braunrot gefärbt, von mäßig fester, den erwähnten Herden entsprechend etwas massiver Konsistenz. Die Schnittfläche der Leber ist bunt gefärbt, der Inhalt der Herde besteht aus homogenem, trockenem, käsigem Material, das dazwischen liegende Leberparenchym ist brüchig.

Im Frühjahr 1911 verendete eine 5 Monate alte Taube, bei der Sektion kamen ähnliche Veränderungen zum Vorschein.

Die beiden Leberlappen sind vergrößert, deren Kapsel getrübt, die Leber braunrot gefärbt mit linsen- bis zweihellerstückgroßen, scharf begrenzten, flachen, graugelben Herden, welche aus trockener, bröcklicher, leicht ausschälbarer Masse bestehen und in das Leberparenchym tief hineinreichen.

Die zweite, in demselben Nest zur Welt gekommene Taube ist ebenfalls verendet, doch wurde der Kadaver nur in ganz verfaultem Zustande aufgefunden, weshalb derselbe sich zur Untersuchung als ungeeignet erwies.

Von der nächsten Brut starb eine 2 Wochen alte Taube und bei der Untersuchung wurden in der Leber die oben beschriebenen Veränderungen nachgewiesen.

In den von den gelblichen Käseherden der Leber bereiteten frischen Präparaten sah ich mit Hilfe des Mikroskops sehr zahlreiche Flagellaten, welche sich sehr rasch bewegten und sozusagen mit großer Vehemenz über die Gewebstrümmer losgingen, ihre Geißeln teilweise einbohrten, dieselben dann sogleich zurückziehend sich etwas entfernten, und nach 2–3mal erneuertem Angriff drangen sie zwischen die Gewebstrümmer und verschwanden in diesen. Manche bewegten sich rotierend, wobei sich die Geißel, einem Schweife gleichend, nachzog.

In frischen, mit physiologischer Kochsalzlösung zubereiteten Präparaten blieben sie lange lebend. Nach 8 Stunden seit der Bereitung des Präparates bewegten sich dieselben noch, bei den meisten bestand aber diese Bewegung nur mehr in Rotierung auf einer Stelle. Im Thermostaten bei einer Temperatur von 37° C bewegten sich manche sogar noch nach 24–26 Stunden ziemlich lebhaft, der Ortswechsel war jedoch schon ziemlich beschränkt.

Die meisten waren birnenförmig oder oval. Das vordere Körperende war mehr oder weniger verjüngt, das Hinterende abgerundet, bei einigen aber war auch das Hinterende zugespitzt und endete sozusagen stachelförmig. Am vorderen Pol waren drei beiläufig gleich lange, die Körperlänge etwas übertreffende Geißeln sichtbar; die 3 Geißeln verkleben sich oftmals, und bei solcher Gelegenheit sind deren Fäden nur bei der Bewegung zu erkennen. Auf dem einen Körperende oder während der Bewegung auf der Körperoberfläche ist eine undulierende Membran erkennbar, welche aus der unmittelbaren Nähe der Geißeln entspringt. Bei einigen Exemplaren ist es gut zu unterscheiden, daß am Rande dieser Membran eine vierte, nach rückwärts gerichtete Geißel verläuft und den Saum der Membran bildet. Der ganze Körper ist farblos, etwas glänzend, das Protoplasma ist granuliert. Beim Ausgangspunkte

der Geißeln ist ein glänzendes Körnchen, der Blepharoplast, hinter diesem der längliche, ovale Kern sichtbar. In dem Protoplasma sind mehrere rundliche Vakuolen, zahlreiche feinere glänzende und einige gröbere Körnchen zerstreut.

In den im Thermostaten aufbewahrten frischen Präparaten nahmen die meisten rundliche Formen an, die Geißeln vereinigten sich, die undulierende Membran behielt aber auch da noch ihre Beweglichkeit. Der Durchmesser der rundlichen Formen betrug 8,4 μ .

Die Infektionsversuche, welche darin bestanden, daß einzelne Teilchen der veränderten und die Flagellaten beherbergenden Leber an zwei junge Tauben verfüttert wurden, bzw. die Einimpfung der aus den nekrotischen Herden der Leber entnommenen kleinen Teilchen mit physiologischer Kochsalzlösung in die Bauchhöhle, bzw. in die Leber der Tauben, blieben erfolglos, nachdem es nicht gelungen ist, die Flagellaten in die Leber zu übertragen.

Aus den angeführten Eigentümlichkeiten läßt es sich entscheiden, daß man es hier mit einer *Trichomonas* zu tun hat, die sich von der von Rivolta beschriebenen *Tr. columbae* kaum unterscheidet und demgemäß die Möglichkeit vorhanden wäre, daß außer der *Cercomonas hepatica* auch die *Trichomonas columbae* in der Leber der Tauben einwandert und daselbst eine ähnliche, mit Gewebszerstörung verbundene Entzündung verursacht. Ich halte es jedoch für sehr wahrscheinlich, daß eigentlich die von Rivolta beschriebene *Cercomonas* ebenfalls zu dem *Trichomonas*-Genus gehört. Hierfür spricht auch der Umstand, daß der Beschreiber zwei Geißeln erwähnt, wogegen die *Cercomonadiden* nur eine besitzen. Mit zwei Geißeln sind die *Bodoniden* versehen, bei diesen ist aber die Körperform ganz abweichend. Meine Meinung wird auch dadurch unterstützt, daß Rivolta bei *Cercomonas* auch einen quer verlaufenden Streifen beobachtete; dies konnte die undulierende Membran sein. Was die Geißeln betrifft, so können diese, wie ich es schon erwähnt habe, sich derart verkleben, daß man nur eine oder höchstens zwei Geißeln unterscheiden kann. Auf die Identität der beiden Protozoen weist ferner auch das noch hin, daß sie bei demselben Wirttiere, in demselben Organ, ganz analoge Veränderungen verursachen.

Die *Trichomonas columbae* ist demgemäß ein fakultativer Parasit, welcher unter gewöhnlichen Verhältnissen im Darmkanal sich aufhält, ohne daselbst Veränderungen hervorzurufen; manchmal aber wandert er auf Anregung eines bisher noch unbekannten Einflusses in die Darmwand (Rivolta) oder durch den Choledukt in das Leberparenchym, wo er eine schwere Entzündung verursacht. Nach Galli-Valerio können auch andere *Trichomonas*-Arten (*Tr. caviae*) den Organismus des Wirttieres auf ähnliche Weise schädigen.

Literatur.

- 1) Babes, V., Untersuchungen über die Diphtherie der Tauben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 376.)
- 2) Bensen, W., Untersuchungen über *Trichomonas intestinalis* und *vaginalis* des Menschen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 18. p. 115.)
- 3) Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg 1908.
- 4) Brumpt, E., Précis de parasitologie. Paris 1910.
- 5) Doflein, E., Lehrbuch der Protozoenkunde. 2. Aufl. Jena 1909.
- 6) Galli-Valerio, Notices de parasitologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. p. 305.)

- 7) Jowett, Note on the occurrence of flagellated organisms in the liver of the pigeon. (Journ. of compar. Pathol. and Therapeut. Vol. 20. 1907. p. 2.)
- 8) v. Prowazek, S., Notiz über die Trichomonas hominis. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. p. 167.)
- 9) — Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 21. 1904. p. 1.)
- 10) Rátz, I., Trichomonas galamb májában. (Allattani Közlemények. IX. K. 1 f.)
- 11) Rivolta, L'Ornitotritia. (La med. d. uccelli etc. Pisa 1880. p. 173.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage nach der Natur der Kurloffschen Körperchen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Breslau
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von **S. Miyaji**, Tokio.

Mit 2 Tafeln.

Im Jahre 1888 beobachtete Kurloff im Ehrlichschen Institut das Vorkommen eigenartiger Zellen im Blute von Meerschweinchen. Es handelt sich nach seiner Beschreibung um Zellen, die die Umwandlung von großen mononukleären zu Uebergangsformen und polynukleären zeigen, sich aber durch den Mangel jeglicher Granulation auszeichnen. Dafür findet sich im Protoplasma der Zellen ein rundliches kernähnliches Gebilde, das sich auch mit Kernfarbstoffen anfärbt und möglicherweise in das Gebiet des Nebenkernes zu rechnen ist. Nach der Auffassung Kurloffs und Ehrlichs dürfte es sich um eine Vakuole handeln, die mit Sekretstoff der Zellen angefüllt ist. Die Gebilde erscheinen zunächst als einzelne, mit dem Zellkern in keinem Zusammenhang stehende punktförmige Kerne im Protoplasma; allmählich vergrößern sie sich und gewinnen einen bedeutenden Umfang. Wenn sie etwa die Größe des Zellkernes erreicht haben, scheinen sie, bzw. ihr Inhalt die Protoplasmahülle der Zelle zu durchbrechen und die Zelle zu verlassen.

Ueber die Natur dieser Körperchen sind verschiedene Hypothesen aufgestellt worden, die nachstehend wiedergegeben werden mögen.

1) Die Vakuolenhypothese wurde, wie erwähnt, ursprünglich vom Entdecker dieser Gebilde aufgestellt. Auch Pappenheim und Ferrata neigen zu der Ansicht, daß die Körperchen als große azurophile Plasmosomen — homogene Sekretvakuolen — aufzufassen wären.

2) Die Protozoenhypothese. Infolge der Ergebnisse der von Cesaris-Demel angegebenen Vitalfärbung wurde die Frage von vielen Autoren lebhaft diskutiert, ob die Körperchen belebtes oder unbelebtes Protoplasma enthalten. Unter den Autoren hat Patella besonders behauptet, daß die Körperchen nicht Degenerationsprodukt der Zelle, sondern eine Art von Parasiten wären. Als Stütze dieser Behauptung gibt er an, einige Male beobachtet zu haben, daß Flagellaten durch Umwandlung der Kurloffschen Körperchen aus den Leukocyten ausschlüpfen. Er will auch, was ätiologisch interessant wäre, auf Endviefutter der Meerschweinchen dieselben Flagellaten gesehen haben. Ledingham nimmt ein Leukocytozoon an.

3) Die Phagocytosenhypothese. Andere Autoren hielten, angesichts der großen Verbreitung der Kurloffschen Körperchen unter

den Meerschweinchen, sowie ihres färberischen Verhaltens, die Protozoenhypothese für zweifelhaft. Cesaris-Demel neigt zu der Ansicht, daß es sich hier um die Aufnahme degenerierter Zellbestandteile durch die Leukocyten, also um phagocytische Prozesse handelt. Auch V. Schilling hat seinerzeit die Ansicht von der Entstehung dieser Körperchen durch phagocytische Vorgänge angesprochen.

4) Die Chlamydozoenhypothese. Neuerdings hat Schilling diese Körperchen eingehend untersucht und hat die verschiedenartigen Gebilde im Körpercheninhalt, welche besonders mit Azur II-Vitalfärbung sehr klar darstellbar sind, für Entwicklungsstufen der Einschlüsse gehalten. Er kam zu der Anschauung, daß sie in der feineren Zusammensetzung in manchen Färbungseigentümlichkeiten und in der Entwicklung mit Chlamydozoeneinschlüssen verschiedener Art große Ähnlichkeit zeigen. In seiner zweiten Mitteilung, welche kürzlich erschienen ist, hält er zwar die Chlamydozoenhypothese noch immer für die wahrscheinlichste. Aber er betont in der Schlußfolgerung: „Sollten aber die vorstehend weiter morphologisch detaillierten Strukturen dennoch durch neue Befunde als selbst parasitisch erwiesen werden können, so würden sie sich von allen bisher bekannten protozoischen und bakteriellen Entwicklungen völlig unterscheiden.“

5) Die Spirochätenhypothese. Während nach den obigen Bemerkungen die parasitäre Natur der Kurloffschen Körperchen überhaupt noch zweifelhaft ist, kam im Jahre 1912 eine neue überraschende Angabe von dem englischen Forscher Edward Halford Ross zur Veröffentlichung. Er glaubt, vermittelt einer besonderen Methode (Agarfärbungsmethode) nachgewiesen zu haben, daß die Kurloffschen Körperchen Parasiten sind und daß spirochätenartige Gebilde nach dem Platzen der Parasiten hervortreten und frei im Blut schwimmen. Ross hat diese Befunde auf die Menschensyphilis ausgedehnt und nach ähnlichen Parasitenformen bei Syphilitikern gesucht. Er will auch hier Zelleinschlüsse im Plasma der mononukleären Leukocyten in Schankern, in angeschwollenen Drüsen, in Roseolen, auch im peripheren Blut usw. nachgewiesen haben. Nach ihm sollen demnach die Kurloffschen Körperchen des Meerschweinchenblutes eine Entwicklungsstufe von Spirochäten sein.

Wie ich oben ganz kurz erwähnt habe, ist die Frage über die Kurloffschen Körperchen noch nicht erschöpft. Dabei mußte es von Interesse sein, die neueren Hypothesen nachzuprüfen. Wenn die Ross'sche Hypothese einwandfrei bestätigt wurde, so wäre es allerdings ein epochaler Fortschritt in der Spirochätenfrage. Auf Veranlassung des Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer habe ich an unserem Tiermateriale eine sorgfältige Untersuchung auf das Vorkommen und Verhalten der Kurloffschen Körperchen unternommen und insbesondere die Ross'schen und Schillingschen Angaben nachgeprüft. Meine Untersuchungen wurden an 151 Meerschweinchen angestellt. Von diesen waren 53 ohne vorherige Behandlung an Stallinfektionen, zum Teil auch im Puerperium eingegangen, 72 stammten aus einem Tuberkulosedesinfektionsversuche, andere Tiere wurden gesund getötet. Alle Tiere wurden möglichst bald nach dem Tode sezziert und Milz, Knochenmark und Blut auf das Vorhandensein Kurloffscher Körperchen untersucht. Ein nennenswerter Unterschied in der Häufigkeit des Vorkommens der Einschlüsse fand sich in den verschiedenen Gruppen nicht. Dagegen bestanden, wie auch andere Forscher fanden, wesentliche Differenzen je

nach Alter und Geschlecht der Tiere. Es wurden 57 ausgewachsene Männchen, 66 ausgewachsene Weibchen (von denen 13 trächtig waren), ferner 10 junge Männchen, 18 junge Weibchen untersucht. Bei einem Teil dieser Tiere konnte noch zu Lebzeiten Blut öfters entnommen und untersucht werden. Nach der Sektion wurden Ausstriche aus verschiedenen Stellen der Milz und aus dem Knochenmark des Ober- und Unterschenkels angefertigt. Bei den frisch getöteten Tieren wurden Milz und Knochenmark mit der Vitalfärbung (Azur II, Boraxmethylenblau, Neutralrot und polychromes Methylenblau) oder mit der Ross'schen Gallertmethode untersucht. Bei der Sektion der trächtigen Meerschweinchen wurden im ganzen 26 Embryonen gefunden, deren Milzen ebenfalls untersucht wurden. Ganz junge Embryonen, deren Milz noch nicht isoliert werden konnte, wurden zum Zwecke der Untersuchung im Mörtel emulgiert und mikroskopiert.

In Bestätigung früherer Untersuchungen fand sich ein Ueberwiegen der Kurloffschen Körperchen bei den Weibchen (48 bei Weibchen und 25 bei Männchen). Bei trächtigen und puerperalen Meerschweinchen wurden die Kurloffschen Körperchen nie vermißt. Bei jungen Tieren und vor allem auch Embryonen kommen sie nicht vor. Dagegen gelang es mir in den Placenten die Kurloffschen Körperchen, wenn auch nur relativ spärlich, nachzuweisen.

Wenn man ein kleines Tröpfchen des peripheren Blutes eines geeigneten Meerschweinchens mit dem Mikroskop untersucht, so sieht man in geeigneten Fällen leicht Leukocyten, welche die eigentümlichen, von Kurloff entdeckten Gebilde enthalten. Das Kurloffsche Körperchen erscheint als ein vakuolenartiger Einschluß der großen mononukleären Leukocyten.

Im natürlichen Zustande sieht es ganz homogen, fast durchsichtig, mäßig lichtbrechend oder zuweilen ganz spärlich uneben oder granuliert aus, woraus man auf eine ungleichmäßige Beschaffenheit des Einschlußinhaltes schließen kann. Es ist durch einen membranartigen Saum gegen den Zelleib scharf abgegrenzt. Ein Leukocyt enthält gewöhnlich ein Körperchen oder selten zwei. Die Form der Körperchen ist verschieden, rundlich, oval, halbkreisförmig oder es sitzt manchmal kappenförmig dem Kern auf. Die Größe schwankt von einem etwa noch sichtbaren Pünktchen bis zu einem Multiplum des Erythrocytendurchmessers. Durch ungewöhnlich große Körperchen kann der Kern stark nach einer Seite hin verdrängt werden.

Die Kurloffschen Körperchen werden mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen leicht gefärbt. Ich habe zuerst die trocken fixierten Ausstriche verschiedener Materiale, welche die Kurloffschen Körperchen mäßig zahlreich oder massenhaft enthielten, mit Methylenblaulösung (Löffler), Fuchsinlösung (1:20), Kristallviolettlösung (1:10), Safranin, Boraxmethylenblaulösung, Azur II (wässrig) [basochrome Farbstoffe] oder Eosin, Säurefuchsinlösung [acidochrome Farbstoffe] gefärbt. Bei Verwendung dieser Farblösungen kann man keine deutlichen Unterschiede im färberischen Verhalten konstatieren. Von dem verschiedenfarbigen Untergrunde heben sich die Kurloffschen Körperchen als blauviolett, violett, rot oder gelb gefärbte Gebilde ab. Im gefärbten Präparat zeigen sie, im Gegensatz zu ihrem Verhalten im ungefärbten Zustande, meist keine regelmäßigen Umrisse oder Formen und sind gewöhnlich, teils von mehr oder weniger schwammiger Gestalt,

teils mehr homogener Natur und der gefärbte Teil liegt gewöhnlich von der Membran abgelöst in der Mitte oder an einer Seite des Körperchens.

Die Kurloffschen Körperchen, welche mit Sublimatalkohol feucht fixiert und Azur II (wässerig) oder polychromer Methylenblaulösung etc. gefärbt wurden, sehen meistens homogen aus. Sie färben sich auch nach Giemsa sowohl im trocken als feucht fixierten Ausstriche leicht und nehmen einen purpurroten Farbton an, auch zeigen sie häufig eine von der Membran abgelöste unregelmäßige Form und sind manchmal fein granuliert. Von besonderer Bedeutung ist das Ergebnis der Vitalfärbung nach Schilling. Bei dieser Methode wird die Farblösung (konz. alkoholische Azur II-Lösung) auf die Oberfläche eines gut gesäuberten Objektträgers gebracht und eintrocknen gelassen. Darauf legt man ein Deckglas, an dessen Unterfläche ein Tropfen des zu untersuchenden Blutes hängt, und umrandet das Deckglas mit Vaseline, um Verdunstung zu vermeiden. Man beobachtet bei dieser Vitalfärbung nach etwa 5–10 Minuten das Auftreten blasser Einschlüsse in einigen großen mononukleären Leukocyten. Etwas später erscheinen die Körperchen sehr deutlich und enthalten intensiv dunkelblauviolett gefärbte kokken-, diplokokken-, hantel-, oder trommelschlegelförmige Gebilde. Man sieht auch nicht selten etwas gewundene fadenförmige Figuren in den Einschlüssen. Sie sind aber viel gröber als alle bekannten Spirochätenformen. Ich habe auch die Vitalfärbung mit Methylenblau, Borax-methylenblau- und Neutralrotlösung in derselben Weise, wie es bereits für die Azur II-Lösung beschrieben wurde, ausgeführt. Auch hier treten nach einigen Minuten den oben beschriebenen Gebilden etwas ähnliche Figuren im Innern der Kurloffschen Körperchen auf. Bei der Vitalfärbung mit polychromem Methylenblau sind es meistens sehr intensiv blauviolett gefärbte Körnchen oder Stäbchen, welche manchmal massenhaft granuliert oder netzartig aussehen. Bei der Neutralrotvitalfärbung sieht man im Innern der Kurloffschen Körperchen häufig ein oder mehrere tief gelblichrot gefärbte Kügelchen, deren Größe und Aussehen kernähnlich ist („pseudonukleäre Gebilde“), daneben häufig äußerst feine Granula. Auch diese Gebilde wurden von früheren Untersuchern, besonders von V. Schilling, bereits beschrieben. Die großen pseudonukleären Massen dürften vielleicht manchmal durch Konfluieren der Granula entstanden sein. Mit dieser Vitalfärbung wurde einmal ein eigenartiger Befund erhoben. Ein gelblichrot gefärbter, aus mehreren Fäden gebildeter Knäuel konfluerte nach etwa viertelstündiger Beobachtung bei Zimmertemperatur plötzlich zu drei verschiedenen großen runden Gebilden. Kurz danach zerplatzte der Leukocyt, und alsbald verschwanden auch die erwähnten Gebilde spurlos.

Jedenfalls ist es sicher, daß die Gebilde in den Körperchen bei der Vitalfärbung häufig mit der Zeit mehr oder weniger ihre Form verändern. Azurrot gefärbte Körnchen, Hanteln oder Schleifen etc. werden allmählich dicker oder sammeln sich häufig später in der Mitte der Körperchen zu einem dichten Knäuel.

Weitere Untersuchungen befaßten sich mit der Nachprüfung der Angaben von Ross, dessen auffallende Befunde mit einer besonderen Methode der Vitalfärbung, der sogenannten Gallert-Farbstoffmethode, erhalten werden. Die Herstellung seiner Farbstoffgallerte erfolgt nach dem nachstehenden Rezept:

Man bereite 2-proz. Agarlösung im Wasser; filtriere davon 3 ccm ab. Mische hierzu 1 ccm Unnas polychromes Methylenblau (Grübler), welches man vorher mit 2 ccm Wasser vermischt hat. Füge ferner 2 ccm folgender Lösung zu:

Natriumcitrat	4,5	g
Natriumchlorid	1,5	„
Atropinsulfat	0,225	„
Aq. destillata	100,0	„

alles zusammen (Agarlösung, Methylenblau und obige Lösung) im Reagensglas aufkochen und 0,3 ccm einer 5-proz. Natriumbikarbonat-Lösung zusetzen.

Ein Tröpfchen der Agarfarbstoffmischung, welche genau nach Vorschrift bereitet wurde, wird auf den sauberen Objektträger gebracht und erstarren lassen. Ein kleines Bluttröpfchen eines geeigneten Meerschweinchens wird auf einem Deckgläschen aufgefangen und sofort auf die Agarschicht gelegt. Nach 5—6 Minuten werden die Leukocytengranula scharlachrot, der Leukocytenkern ganz blaßblau, später intensiv rot und die Kurloffschen Körperchen kupferfarbig angefärbt und der Einschlusshalt tritt in Gestalt der verschiedenförmigen Figuren, wie man sie bei der Azur II-Vitalfärbung beobachtet hat, zutage. Man sieht im übrigen mit diesem recht komplizierten Verfahren von Ross kaum mehr Einzelheiten als mit den oben beschriebenen einfacheren Verfahren der Vitalfärbung, bei denen der Farbstoff ohne Agarzusatz auf dem Objektträger angetrocknet wurde. Wenn man bei der Gallertmethode die tiefgefärbten Figuren im Innern der Einschlüsse ständig beobachtet, so sieht man zuweilen von der Protoplasmahülle der Leukocyten eine knospenartige Vorwölbung des Körpercheninhaltes mit den Körnchen etc., was das spontane Platzen oder die Bewegungen der Körperchen vortäuscht. Es scheint uns wahrscheinlich, daß diese Erscheinung durch osmotische Wirkungen der Farbstofflösung verursacht wird. Ich habe die Körperchen in natürlichem Zustande im Heizschrank stundenlang untersucht und in diesem Fall hat der Einschuß gar keine Veränderung gezeigt, trotzdem die einschlußhaltigen Leukocyten mehr oder weniger amöboide Formveränderung zeigten.

Außer den Ausstrichen wurden auch Schnittpräparate aus der Milz trächtiger Meerschweinchen, welche im Ausstriche massenhaft Kurloffsche Körperchen enthielten, untersucht. Zur Fixierung des Materials dienten Alkohol, Sublimatalkohol, Zenkersche und Flemmingsche Lösung. Die Schnitte wurden mit Methylenblaulösung, Azur II (wässerig) oder Giemsa-Lösung gefärbt. Bei allen diesen Methoden waren die Kurloffschen Körperchen meistens ungefärbt, und in Leukocyten, deren Kerne nach einer Seite der Zellen verschoben waren, fielen sie dem Beobachter als homogene bläschenförmige Gebilde auf. Es fehlte daher hier jede Spur von der bei der Vitalfärbung beobachteten Innenstruktur.

Ferner habe ich versucht, durch Zusatz verschiedener Chemikalien Aufschlüsse über die Beschaffenheit der Kurloffschen Körperchen zu erhalten. Zu diesem Zwecke habe ich die Körperchen mit Reagentien unter dem Deckgläschen behandelt und mikroskopiert. Schwache Säuren und Alkalien (1-proz. Essigsäure-, 0,5—1-proz. Kalilauge) und Lugolsche Jodjodkalilösung rufen keine merklichen Veränderungen hervor.

Setzt man dem frischen Präparate unter dem Deckgläschen ein Tröpfchen konz. Essigsäure zu, so verschwindet die Membran der Kurloffschen Körperchen plötzlich und der Körpercheninhalt konfluiert mit dem Protoplasma des Leukocyten. Die Kerne treten zunächst sehr deutlich hervor, während das umgebene Protoplasma aufquillt; bald darnach verschwindet das Plasma und der Kern vollständig. Durch Zusatz von konz. Kalilauge lösen sich die Körperchen mit den Leuko-

cyten momentan auf. Wenn man ein Tröpfchen destilliertes Wasser unter dem Deckgläschen zusetzt, so quellen die Körperchen infolge von osmotischen Wirkungen auf, runden sich ab, platzen später und verschwinden spurlos. Ich habe bei dieser Gelegenheit einmal beobachtet, daß im Innern der quellenden Kurloffschen Körperchen homogene Klümpchen auftraten. Gegenüber dem Zusatz von 0,1-proz. Antiforminlösung verhalten sich die Leukocyten verhältnismäßig widerstandsfähiger als die Erythrocyten. Unter dem Einfluß der Osmose quellen die Kurloffschen Körperchen stark, ähnlich wie beim Zusatz von destilliertem Wasser; sie sehen wie starkgespannte homogene (hyaline) Kügelchen aus und lösen sich bald mitsamt dem Leukocyten auf. Ich habe einen interessanten Fall gesehen, wo die starkgespannten Körperchen die Leukocytenwand durchbrachen und kurze Zeit frei existierten, bald darnach aber spurlos verschwanden. Auf Zusatz von einem Tröpfchen verdünnten Alkohol (70 Proz.) treten die Leukocytenkerne und Leukocytengranula sehr deutlich hervor. Die Kurloffschen Körperchen sehen nicht gespannt aus, sondern schrumpfen mehr oder weniger, der membranartige Saum löst sich allmählich auf und der Körpercheninhalt kann dann nicht mehr vom Leukocytenleib unterschieden werden. Der Ort, wo die Körperchen gewesen waren, bleibt nur als ein blasses blasenartiges Gebilde angedeutet. Behandelt man die Körperchen unter dem Deckgläschen mit Aceton, so treten zuerst keine merklichen Veränderungen hervor. Saugt man mit Fließpapier vom Rande des Deckgläschens die Flüssigkeit durch das Präparat, so werden die Körperchen mehr lichtbrechend und der Saum löst sich allmählich, ohne daß man Vakuolen, freie Kügelchen oder Körnchen im Körpercheninhalt zu sehen vermag.

Die Versuche wurden auch mittels der Dunkelfeldbeleuchtung beobachtet. Es war aber nicht möglich, mit Sicherheit zu konstatieren, daß die hantel- oder schleifenartigen Innengebilde, die bei der Vitalfärbung gesehen waren, auch hier beim Platzen der Membran hervortreten.

Bei der Einwirkung verdauender Enzyme (Trypsin, Papayotin) habe ich die Körperchen in der Milzemulsion nach 24-stündigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur noch nachgewiesen, trotzdem das Fibrin in den Kontrollversuchen vollständig aufgelöst war.

Durch die Versuche erkennen wir, daß die Kurloffschen Körperchen viel widerstandsfähiger sind, als die Erythrocyten, aber weniger resistent als die Leukocytenkerne. Vielleicht ist der Inhalt nicht einheitlich und enthält Substanzen verschiedener Viskosität. Diese Annahme kann einige der beschriebenen Befunde erklären. Dagegen konnten wir nicht konstatieren, daß die bei der Vitalfärbung darstellbaren Innengebilde der Körperchen präformiert sind.

Weitere Versuche wurden unternommen, um verschiedene Materiale, welche die Körperchen reichlich enthielten (Blut, Milz und Knochenmark), in natürlichem Zustande mit der Dunkelfeldbeleuchtung zu untersuchen. Man sieht die Körperchen im Dunkelfeld meist als homogene, dunkle Platten in den Leukocyten, ähnlich dem Aussehen der roten Blutkörperchen. Der Saum der Körperchen ist stark lichtbrechend und vom Leukocytenleib deutlich scharf abgegrenzt. Zuweilen sieht der Körpercheninhalt ganz leicht wolkig getrübt aus. Indessen gelang es niemals im Dunkelfeld, weder bei Zimmertemperatur noch in

der Heizkammer bei 37°, das Vorhandensein der verschiedenen bei der Vitalfärbung beobachteten Gebilde zu konstatieren.

Ferner wurden die mit verdünnter Azur II-Alkohollösung vital gefärbten Präparate mittels der Dunkelfeldbeleuchtung untersucht. In diesem Fall sieht das Körperchen zuerst ganz dunkel aus, wie oben erwähnt. Aber nach einigen Minuten treten etwas lichtbrechende Figuren im Körperchen auf; sie werden allmählich stärker lichtbrechend und treten zuletzt als starkrefraktilen kokken-, diplokokken-, hantel-, trommelschlegel- oder stäbchenförmige Gebilde mit einer gelblichen Farbnuance im Dunkelfeld hervor. Sie entsprechen genau den bei der Vitalfärbung gesehenen Gebilden. Wären die beschriebenen Innengebilde der Kurloffschen Körperchen wirklich präformiert, so hätte man erwarten dürfen, sie sind bereits im ungefärbten überlebenden Präparate bei Dunkelfeldbeleuchtung zu sehen. Der Umstand, daß sie erst nach Zusatz des Farbstoffes erkennbar werden, und die auffallende Unregelmäßigkeit der Gestalt scheint mehr für die Annahme der Imbibition der Farbstoffe zu sprechen.

Bei dieser Anordnung wurde nicht nur auf das Vorhandensein von Innenstrukturen in den Kurloffschen Körperchen, sondern auch besonders auf das Auftreten des von Ross beschriebenen Spirochäten geachtet. Ich habe jedoch in keinem einzigen Falle typische Spirochäten sehen können.

Wäre die Rosssche Hypothese richtig, so müßte man erwarten, mittels der Dunkelfeldbeleuchtung wenigstens vereinzelte Spirochäten im Innern der Kurloffschen Körperchen vorgebildet zu erkennen. Was man aber mit der Vitalfärbung sieht, sind nur große, ganz unregelmäßig geformte Gebilde, die mit Spirochäten kaum die entfernteste Ähnlichkeit haben. Außerhalb der Kurloffschen Körperchen, frei im Blute, habe ich auch bei 37° im Dunkelfeld keine Spirochäten gesehen. Wohl aber erkennt man gelegentlich bei dieser Anordnung feine, gewellte Fäden mit leicht wellenförmiger passiver Bewegung, die sehr wohl auf den ersten Blick Spirochäten vortäuschen könnten. Ähnliche Gebilde hat kürzlich H. Chambers bei der Untersuchung des menschlichen Blutes bei Fällen von Basedowscher Krankheit, später auch bei anderen Krankheiten sowie bei Gesunden beobachtet und als neue Spirochätenbefunde im Menschenblute gedeutet. Bei allen diesen Beobachtungen dürfte es sich um sogenannte „Pseudospirochäten“ handeln, fädige Gebilde, die bei der Degeneration der roten Blutkörperchen, vielleicht auch der Blutplättchen, entstehen. Derartige Gebilde sind seit längerer Zeit bekannt und u. a. besonders genau von BALFOUR beschrieben worden.

Die färberische Darstellung solcher Gebilde mit den üblichen Spirochätenfärbemethoden — Giemsa'scher Lösung, Levadit'schem Versilberungsverfahren — führte in keinem Falle zum Ziele.

Fernere Untersuchungen bezweckten die Entscheidung der Frage, ob man die Kurloffschen Körperchen durch Impfung von Tier zu Tier übertragen kann. Allerdings sind diese Versuche a priori mit größter Vorsicht zu bewerten, da erfahrungsgemäß auch bei unbehandelten Tieren, die in wiederholten Untersuchungen negativ waren, doch gelegentlich spärliche Körperchen im Laufe der Zeit im Blute auftreten können. Ich habe zu diesem Zwecke relativ junge Weibchen und Männchen, bei welchen die Körperchen bei den wiederholten Untersuchungen immer im Blut fehlten, benutzt. Als Impfmateriel habe ich

das Blut und die Milz frisch getöteter trächtiger Meerschweinchen, die reichlich Kurloffsche Körperchen enthielten, verwendet. Das Blut wurde durch Zusatz von Natriumcitrat ungerinnbar gemacht und die Milz wurde in sterilisiertem Mörtel emulgiert und einer Anzahl von Tieren intravenös, intraperitoneal, subkutan oder intramuskulär (in der Oberschenkelgegend) eingespritzt.

Aber ich kann noch nicht mit Sicherheit die Uebertragbarkeit beweisen, da meine Tierversuche trotz zweimonatlicher Beobachtung bis jetzt alle negativ verliefen, ebenso wie die von anderen Autoren. Entsprechend den Angaben von Schilling konnte auch ich bei Tieren mit spärlichen Kurloffschen Körperchen nach intraperitonealer Injektion von einem sehr viele Körperchen enthaltendem Milzbrei im Verlauf von zwei Wochen keine Zunahme der Körperchen im strömenden Blut beobachten.

Auf Grund der beschriebenen Versuchsergebnisse wird es möglich sein, die verschiedenen, eingangs aufgeführten Hypothesen über die Natur der Kurloffschen Körperchen kritisch zu beleuchten. Gegen die Auffassung der Einschlüsse als selbständige Gebilde, z. B. als Protozoen, spricht zunächst das Fehlen eines eigentlichen Kernes in ihnen. Die sogenannten pseudonukleären Gebilde, die man bei der Vitalfärbung sieht, sind, wie erwähnt, nicht präformiert und lassen sich mit den Kernfärbungsmethoden im fixierten Präparat nicht darstellen. Ferner spricht gegen die Protozoennatur, daß es bisher nicht gelungen ist, freie Entwicklungsstadien der hypothetischen Parasiten zu sehen, oder auch Uebertragungen direkt oder indirekt aufzuführen.

Die Spirochätenhypothese von Ross darf nach unseren Befunden wie auch nach den letzten Ergebnissen von V. Schilling, ebenfalls als widerlegt gelten.

Ferner muß auf das Entschiedenste betont werden, daß der Nachweis, daß die Kurloffschen Körperchen Chlamydozoen im Sinne von Prowazeks darstellen, nicht erbracht ist. Es scheint uns, als ob die mit der Vitalfärbung darstellbaren verschiedenen Figuren im Innern der Einschlüsse von Anfang an nicht vorhanden sind und erst durch die Imbibition der Farbstofflösung in die Körperchen auftreten. Diese Vermutung liegt besonders nahe, wenn man die Körperchen mittels der Dunkelfeldbeleuchtung untersucht, wie oben erwähnt. Ich möchte hier eine interessante Tatsache bei der Vitalfärbung des Blutes, welche manche Autoren (Cesaris-Demel, Pappenheim u. a.) bereits beobachtet haben, mitteilen. Die Erythrocyten sehen im natürlichen Zustande ganz homogen aus und im Dunkelfeld als runde dunkle Platten mit lichtbrechenden Säumen. Wenn man das Blut vital färbt, so sieht man in manchen Erythrocyten eine Masse von Körnchen, Stäbchen oder kurzen Fäden, welche mit der Zeit sich allmählich intensiv färben und das Aussehen von Farbstoffniederschlägen bieten. Im Dunkelfeld kann man diese Figuren als stark lichtbrechende Gebilde wie bei den vital gefärbten Kurloffschen Körperchen beobachten. Ich konnte nicht beobachten, daß die Zellen mit den Kurloffschen Körperchen besondere auffällige Degenerationsstigmata zur Schau tragen. Nach Schilling können die Kurloffschen Körperchen auch frei existieren, und er meint damit beweisen zu können, daß sie nicht einfache Vakuolen sind. Aber diese Tatsache konnte ich nicht mit Sicherheit bestätigen. Man sieht nur zuweilen die Körperchen frei neben den zu-

grunde gegangenen Leukocyten im Blut-, Milz- oder Knochenmarkpräparate, welche ich auf die Kunstprodukte, die bei der Anfertigung der Präparate vorkommen, zurückführen möchte. Bereits Kurloff hat Vermutungen über die Schicksale der Körperchen ausgesprochen. Er sagt: „Wenn sie etwa die Größe des Zellkernes erreicht haben, scheinen sie, bzw. ihr Inhalt, die Protoplasmahülle der Zelle zu durchbrechen und die Zelle zu verlassen.“ Wir glauben aber doch, daß man zunächst den Beweis erbringen muß, daß solche Gebilde tatsächlich die „Infektionserreger“ und daß sie wirklich „belebt“ sind. Wie bereits erwähnt, waren unsere Tierversuche ohne Erfolg. Es scheint uns, als ob die Kurloffschen Körperchen in irgendeinem Alter bei mehreren Meerschweinchen sich spontan entwickeln. Ich habe bei den jungen Meerschweinchen, welche mit den trächtigen Tieren in einem Käfig gefüttert wurden, lange Zeit gar nicht die Körperchen im Blut während des Lebens und ebensowenig in der Milz nach dem Tode konstatieren können. Wenn sie wirklich eine Art von Blutparasiten wären, so würden die Tiere reichlich Gelegenheit zur Infektion von ihren Nachbarn, z. B. auch durch Vermittelung der vielen Sauginsekten etc. haben. Ich habe jetzt ein noch nicht ausgewachsenes Weibchen mit den jungen Tieren in einem Käfig, bei welchem bei der wiederholten Blutuntersuchung lange Zeit keine Körperchen gefunden wurden, aber nach Verlauf von ca. 3 Monaten nach der Geburt zuweilen im Blut spärlich nachgewiesen sind. Die durchschnittliche Altersgrenze, bei der die Körperchen sich entwickeln, können wir noch nicht sicher feststellen. Ich möchte hier erwähnen, daß die früheren Untersucher auch den Kurloffschen Körperchen ähnliche Gebilde zuweilen bei Hunden, Ratten, Mäusen, Fröschen und Regenwürmern beobachtet haben. Schilling hat selbst auch einmal eine Form eines Vaccineeinschlusses auf der Kaninchenhornhaut, welcher absolute Identität mit dem Kurloffschen Körperchen der Blutbahn beim Meerschweinchen aufwies, beobachtet. Nach seiner Skizze enthielten diese Gebilde bei der „Vitalfärbung mit Azur II“ zahlreiche Körnchen und gewundene Faden.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Befunde zusammen, so muß zunächst gesagt werden, daß die Kurloffschen Körperchen nicht als Parasiten angesehen werden dürfen.

Meiner Beobachtung nach haben die Einschlüsse im nativen Zustande bei Körper- und Zimmertemperatur niemals Bewegungen gezeigt, bestätigen. Ebensowenig fand ich Bilder, die als intrakorpuläre oder freie Spirochäten zu deuten wären. Die mikroskopischen Befunde bei den Vitalfärbungen sind zwar mehr oder weniger ähnlich den Initialkörperchen, Elementarkörperchen etc. bei den Chlamydozoeneinschlüssen. Dagegen sprechen aber die folgenden Gründe:

- 1) die verschiedene Färbbarkeit der Einschlußmasse als die der echten Initialkörperchen etc.,
- 2) der Mangel des Nachweises der Uebertragbarkeit,
- 3) die negativen Befunde des Körpercheninhaltes im nativen Zustande bei der Dunkelfeldbeleuchtung.

Wir können daher auch nicht auf Grund der bisherigen Beobachtungen den Schluß ziehen, daß die mit den Vitalfarbstoffen darstellbaren groben Figuren die Entwicklungsstufe von filtrierbaren Virus-

arten sind. Wahrscheinlich sind die Kurloffschen Körperchen ein unbelebtes vakuolenartiges Gebilde in den Leukocyten, welche nach einem gewissen Wachstum der Tiere spontan sich entwickeln und mit dem Geschlechtsleben der Tiere eine gewisse Beziehung hat.

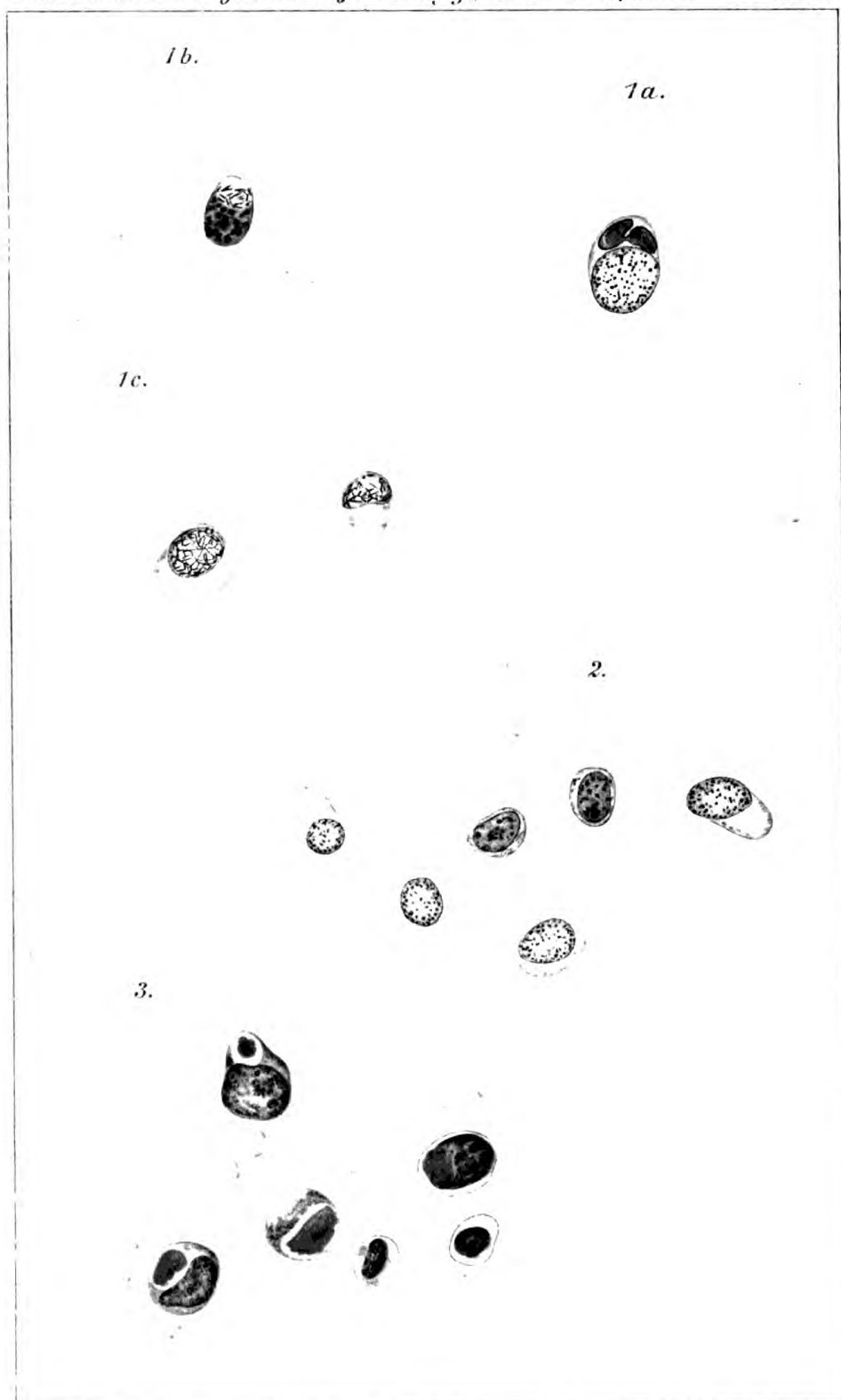
Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Pfeiffer, für das wohlwollende, meiner Arbeit geschenkte Interesse und die freundliche Leitung derselben, meinen wärmsten Dank auszusprechen. Auch ich bin Herrn Privatdozenten Dr. Prausnitz wegen seines hilfreichen Beistandes zum Danke verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

- Balfour, A., Fourth Report of the Wellcome Tropical Research Laboratories at the Gordon Memorial College Khartoum.
 Cesaris-Demel, Virchows Arch. Bd. 195.
 Chambers, H., The Lancet. No. 4686. 1913.
 Ehrlich-Lazarus, Anämie. 1898.
 Flu u. Pappenheim, Folia haematologica. Bd. 13.
 Pappenheim, Folia haematologica. Bd. 5.
 —, Ebenda Bd. 13.
 —, — Ferrata, Ebenda Bd. 10.
 Patella, Rif. med. Vol. 28. (Referat.)
 Prowazek, Handbuch der pathogenen Protozoen. Bd. 1. 1912.
 Ross, E. H., British medical journal. 1912. No. 2711.
 —, Annals of trop. medicine. Vol. 6. 1912.
 Schilling, V., Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. 58. 1911.
 —, Ebenda Bd. 63. 1912.
 —, Ebenda Bd. 69. 1913.
 —, Folia haematologica. Bd. 7.
 —, Ebenda Bd. 13.
 —, Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 4.

Figurenerklärung.

- Fig. 1—3. (Leitz, Vergrößerung 500.)
 Fig. 4. (Zeiss, Apochromat. 4 mm Komp.-Okular 4.)
 Fig. 1 a, b, c. Kurloffsche Körperchen des peripheren Blutes, vital mit Unnas polychromem Methylenblau angefärbt.
 Fig. 2. Vier Kurloffsche Körperchen aus der Milz eines trächtigen Meer-schweinchens, vital mit polychromem Methylenblau angefärbt (daneben zwei Milzpulpa-zellen).
 Fig. 3. Kurloffsche Körperchen aus der Milz, mit Sublimataalkohol feucht fixiert und mit polychromem Methylenblau angefärbt.
 Fig. 4a. Drei Kurloffsche Körperchen des peripheren Blutes im nativen Zu-stande im Dunkelfelde.
 Fig. 4b. Drei Kurloffsche Körperchen des peripheren Blutes im Dunkelfelde, vital mit Azur II (stark verdünnte alkoholische Lösung) angefärbt, kokken-, diplo-kokken- und hantelförmige Gebilde im Innern der Körperchen stark lichtbrechend mit gelblicher Farbnuance, Leukocytenkerne rot, zwei Erythrocyten zeigen gelblichbraun gefärbte, stark lichtbrechende Gebilde.

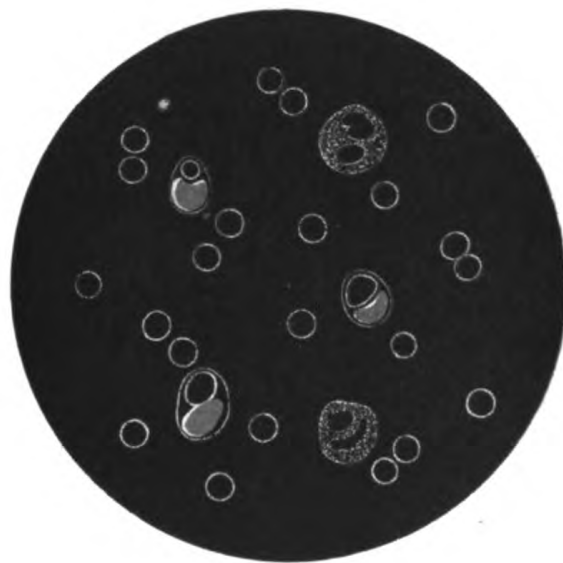


Miyaji del.

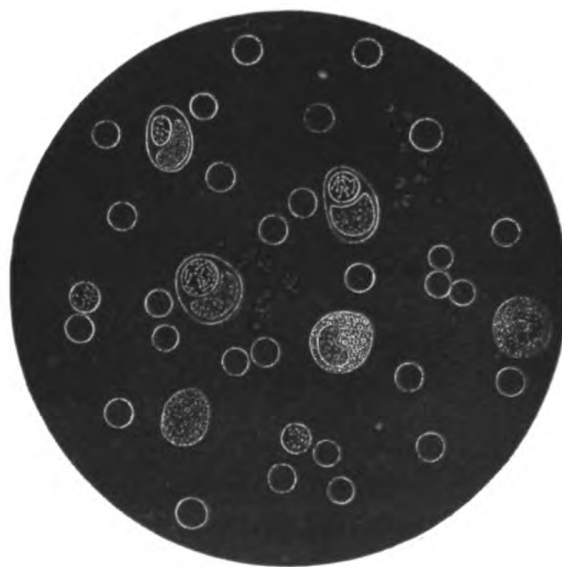
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

4 a.



4 b.



Miyaji del

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Nachdruck verboten.

Sur la filaire hématique du chameau.

[Laboratoire de bactériologie de l'armée à Tripoli.]

Par le docteur **Antonio Pricolo-Tripoli**.

En faisant suite à ma note sur les larves de filaire dans le sang du chameau parue ici-même l'année dernière, je fais connaître maintenant le parasite adulte qui donne naissance aux dites larves.

D'abord il faut dire que j'ai mis hors de doute et en évidence la relation de parenté existant entre les larves et le parasite adulte dont je vais parler; car j'ai démontré la présence des larves dans le sang des sujets où je venais de rencontrer le parasite adulte, et vice-versa la présence du parasite adulte chez les sujets où je venais de rencontrer des larves.

La plus grande fréquence de la filaire coïncide d'après mes observations avec la chaude saison: en effet sur 20 cas rencontrés jusqu'ici 11 ont été observés pendant les mois de juillet et août. Dans ma note citée j'ai oublié de dire que les larves dans le sang se trouvent, si non exclusivement, à préférence pendant les heures de la nuit.

Les parasites adultes, mâles et femelles entremêlés, ont été rencontrés par moi deux fois dans les vaisseaux sanguins du poumon et six fois dans les vaisseaux sanguins des testicules. Ils glissent facilement hors de la lumière des vaisseaux où ils se trouvent renfermés; aussi semble-t-il que, au moins pendant la première période de leur existence, ils ne contractent aucune adhérence avec les parois des vaisseaux.

Les poumons où j'ai trouvé le parasite présentaient des lésions et notamment des nodules calcaires, qui ont été remarqués aussi dans les parois de l'intestin et dans le foie: la relation de ces nodules avec la présence de la filaire est douteuse: aussi je ne fais que les mentionner.

Au contraire les lésions que j'ai rencontrées dans le testicule ne peuvent relever que de la présence de la filaire. Ces lésions sont très accusées ou bien elles sont moindres: cela peut dépendre de l'âge ancien ou récent de l'infestation.

Le testicule du chameau porteur de filaires présente l'état qu'on appelle de sclérose hypertrophique. Le volume et la consistance de l'organe sont augmentés, sa surface est bosselée. Sur la coupe on ne trouve plus une substance souple et d'une nuance jaunâtre qui caractérise le parenchyme testiculaire, mais une substance fibreuse et d'une couleur blanche entremêlée de couches plus foncées. Sur des sections pratiquées au microtome on voit que la substance propre de l'organe est disparue en grande partie; à peine restent-ils quelques débris d'elle enveloppés par des faisceaux de tissu conjonctif, en partie riche de cellules et en partie pauvre, et par un grand nombre de vaisseaux sanguins.

Description de la filaire adulte.

Cette filaire du chameau que je propose d'appeler *Filaria haemtica cameli* n'a rien à voir avec un autre ver qui a été rencontré par mon ami le docteur Ferraro chez des dromadaires de la colonie Erythrée dans le tissu conjonctif du cou. Les dimensions en longueur de ce ver n'ont pu être établies car il était seulement en partie libre, tandis que le reste était comme noyé au milieu d'un tissu conjonctif jeune. Il forme

dans le tissu conjonctif des pelotons presque de la grosseur d'une noisette; aussi sa longueur semble être considérable. Son épaisseur est environ mm 0,6 et sa cuticule présente des noeuds régulièrement espacés à la distance de 10 μ l'une de l'autre, qui font ressembler sa figure à une canne de bambou. Les nodosités de la cuticule sont très caractéristiques et distinguent nettement cette filaire cutanée de la filaire hématique.

Chez la filaire hématique d'abord il faut distinguer une femelle et un mâle.

Femelle. Ver de l'apparence d'un gros fil de catgut, qui au début semble avoir une nuance rose, mais qui après lavage devient blanc un peu nacré. Sa longueur est de 22 cm environ et son épaisseur atteint 666 μ . Sa tête large 140 μ environ a une bouche orbiculaire sans papilles: elle se restreint tout de suite pour former le cou, qui est long environ 117 μ et plus mince que la tête. A partir du cou l'épaisseur augmente graduellement et atteint son maximum lorsque commencent les ovaires qui sont visibles par transparence. La queue se termine en pointe tronquée et diffère essentiellement de celle du mâle.

Les ovaires renferment des milliers de cellules à des degrés divers de développement: ces cellules sont juxtaposées comme des cellules épithéliales, leur contour est polygonal, leurs dimensions varient peu dans la longueur qui est de 30 μ environ et sont très variables en largeur qui oscille parmi 11 et 20 μ .

Les œufs ont contour parfaitement oval et renferment des embryons à des degrés différents de développement. L'œuf, coque comprise, mesure 32 μ de longueur et de 12 à 15 μ de largeur. L'embryon pelotonné sur lui-même forme trois segments réunis par deux coudes ou plis de passage: si les segments sont quatre les coudes correspondants sont trois. Les embryons peuvent se rencontrer aussi libres après leur sortie de la coque et alors ils sont encore pelotonnés ou bien distendus.

Mâle. Ver filiforme de l'apparence d'un fil mince de catgut, où semble plus marquée la nuance rose à peine est-il retiré du vaisseau sanguin et l'apparence nacrée ensuite. Il est long de 8 à 12 cm et présente une épaisseur moyenne de 300 μ . Sa tête de l'épaisseur de 105 μ est séparée du corps moyennant un étranglement très court et très peu accentué qui constitue le cou. Le corps de l'épaisseur d'environ 160 μ au début augmente progressivement d'épaisseur, devient cylindrique et atteint l'épaisseur maxime de 350 μ . Vers $\frac{3}{4}$ de sa longueur le corps cesse d'être régulièrement cylindrique et diminue progressivement d'épaisseur au fur et à mesure qu'il se rapproche de l'extrémité caudale de manière que, presque à 1 cm de cette extrémité a seulement la largeur de 80 μ . L'extrémité caudale très mince est conformée comme un tire-bouchons avec trois segments de spire.

Les parasites se trouvent, comme j'ai dit, libres dans les vaisseaux sanguins, qui à leur niveau forment des dilatations anévrysmatiques. Ils forment des pelotons d'un ou deux individus; quelquefois le parasite au lieu d'être pelotonné est distendu. Je n'ai rencontré jamais dans chaque testicule un nombre de parasite considérable. Les testicules peuvent être affectés tous les deux ou bien un seul.

Les symptômes morbides auxquels la présence des filaires adultes donne lieu doivent être nuls ou insignifiants; mais la quantité de larves que les parasites adultes versent dans le sang ne doit pas être inoffensive. Néanmoins le rôle pathogène des larves n'a pas encore été éclairci.

Tripoli, 12 juin 1913.

Nachdruck verboten.

Strongle capillaire du chameau.

[Laboratoire de bactériologie de l'armée à Tripoli.]

Par le docteur **Antonio Pricolo-Tripoli.**

Sous ce nom (*Strongylus capillaris*) je décrirai un petit nématode des dromadaires que dans la littérature à ma disposition je ne trouve encore décrit.

Dimensions. Ver capillaire qu'à peine on voit à l'œil nu mesure 5 à 7 mm de longueur sur une épaisseur maximum de 90—100 μ : l'épaisseur de l'extrémité céphalique est de 18 μ , celle de l'extrémité caudale qui se termine en cône à base très large est de 5 μ environ. L'épaisseur, à partir de la tête augmente graduellement de 15 à 30—40—50—60 μ jusqu'à atteindre l'épaisseur maximum de 100 μ , qu'on trouve jusqu'à la base du cône qui constitue la queue chez la femelle. Aux côtés de la tête on trouve très rarement deux petits appendices en forme d'ailes.

La femelle porte un utérus simple, c'est-à-dire qu'on voit une seule file d'œufs disposés parallèlement ou obliquement au grand axe du parasite. L'extrémité céphalique ne semble pas posséder d'armature. Les œufs sont longs 90 μ et larges 45, ils ont une forme elliptique et un double contour et renferment un protoplasme grossièrement granuleux. L'extrémité céphalique est pliée à crochet.

Le mâle présente presque les mêmes dimensions de la femelle; seulement il est un peu moins épais dans sa partie postérieure que la partie correspondante de la femelle. Son extrémité céphalique ne présente pas de crochet. A 10 μ en avant de la bourse copulatrice on trouve l'an us qui présente une couleur et une structure particulières. Sa couleur est jaune brunâtre; sa structure est celle d'une fourchette à trois branches. La branche postérieure est mince et cylindrique: elle est dirigée vers la bourse copulatrice. Les deux branches postérieures paires, larges, aplaties sont dirigées en avant et circonscrivent un espace divisé en deux par deux petits appendices internes des branches antérieures de la fourchette. La fourchette est formée de fibres longues et minces entortillées. L'extrémité de la branche postérieure forme une espèce de bouton.

Ce parasite a été trouvé par moi dans l'intestin grêle du chameau chaque fois que je l'ai cherché. Il semble donc être un hôte habituel de l'intestin grêle du chameau de la Tripolitaine. Il ne faut pas pourtant en conclure à son innocuité. Souvent il est accompagné d'hémorragies, d'hyperémie et de catarrhe de la muqueuse. Sur centaines d'autopsies pratiquées sur des chameaux par moi et mes collègues, on a trouvé au moins dans la moitié des cas des lésions catarrhales, hyperémiques et hémorragiques de la muqueuse de l'intestin grêle. Quelquefois même j'ai observé des symptômes de maladie grave, très souvent de la diarrhée et non rarement des altérations anémiques du sang qui ne purent être attribuées à d'autres causes qu'à la présence du strongle capillaire. Toutefois son rôle pathogène mérite encore d'être éclairci.

Le crochet qu'on remarque chez le femelle semble dû à une contraction post-mortelle; toujours est-il que la femelle vivante nageant

dans le contenu intestinal dont elle se nourrit ne montre pas de crochet tandis qu'elle mange. On voit le parasite exécuter de lents mouvements vermiculaires plusieurs heures après la mort de l'animal. Les œufs chez le ver vivant sont noirâtres.

Ce ver peut-être a été décrit sous le nom de *Strongylus instabilis* chez d'autres mammifères: certainement il n'a rien à faire avec le *Strongylus contortus* qu'on rencontre aussi souvent chez le chameau, à préférence dans la caillette, et qui présente une couleur brune et les dimensions suivantes: 1 à 1½ cm de longueur et 100 µ d'épaisseur.

Tripoli, 12 juin 1913.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über die Passage von *Schizotrypanum Cruzi* Chagas durch einheimische Tiere.

Teil I.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“.

Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Professor Dr. Gaffky,
Abteilungsleiter des Protozoen-Laboratoriums: Prof. Dr. Hartmann.]

Von Dr. Kurt Nägler.

Mit 1 Tafel.

Die vorliegende Untersuchung wurde angestellt, um die experimentellen und cytologischen Befunde über *Schizotrypanum Cruzi* Chagas¹⁾ zu erweitern, besonders im Hinblick auf die Passage durch einheimische Tiere. Der Entwicklungszyklus von *Schizotrypanum Cruzi* steht ja wohl in großen Zügen durch die ausführlichen Untersuchungen von Chagas (1909—1911) und Hartmann (1910) fest. Immerhin blieben noch einige Punkte betreffs der von Chagas behaupteten Sexualität und des Dimorphismus der Trypanosomen in „männliche“ und „weibliche“ Formen strittig und sind noch immer nicht einwandfrei geklärt.

Die Untersuchungen, die im Oktober 1912 begonnen wurden und sich zunächst bis zum März 1913 erstreckten, bezweckten zuerst eine Feststellung, welche einheimischen Tiere mit der Spritze infiziert werden können, und in welchem Maße die Trypanosomen sich als infektiös erweisen. Hierbei ergaben sich verschiedene Nebenresultate. Die cytologischen Befunde an *Schizotrypanum* veranlassen mich, die sogenannten Sexualitätsformen vorläufig abzulehnen. Ich fasse sie als Variationen des einen Typus auf. Die Versuche, durch Insekten eine Uebertragung herbeizuführen, mußten infolge der Ungunst des Winters abgebrochen werden, sollen aber nach Möglichkeit im Sommer wieder aufgenommen werden.

1) Obwohl Chagas (1911) wieder als Gattungsnamen *Trypanosoma* vorschlägt im Hinblick auf die Schizogonie, die auch bei *Tryp. rotatorium* nach Machado (1911) vorkommt, so mag doch vorläufig der bereits sich eingebürgerte Name bestehen bleiben, da die Parasiten immerhin gut charakterisierte Unterschiede gegenüber anderen Trypanosomen erkennen lassen.

I. Die Uebertragung auf einheimische Tiere.

Das Ausgangsmaterial stammt von Mäusen, die mir von Herrn Professor Schilling in lebenswürdiger Weise überlassen wurden. Herr Professor Schilling hatte sich die Mäuse aus dem Tropen-Institut in Hamburg schicken lassen.

Meine Untersuchungen begannen nach den Protokollen am 3. Okt. 1912. Die Weiterimpfung geschah zunächst nur auf weiße Mäuse, und zwar wurden etwa 10 Tropfen des infektiösen Blutes aus der Schwanzspitze entnommen und 2 neuen Mäusen subkutan oder intraperitoneal injiziert. Bei einer derartigen Injektion ließ die Infektion der neuen Mäuse relativ lange auf sich warten und trat etwa am 5. bis 7. Tage ein. Am 9. Tage war regelmäßig der Höhepunkt der Infektion erreicht, und am 11. Tage gingen die Mäuse ein. Bei einer Neuinfektion mit durch Herzpunktion gewonnenem Blute traten die ersten Trypanosomen im peripheren Blute frühestens am 3. Tage auf, und der Tod erfolgte oft schon am 10. Tage. Des öfteren gingen die mit nur wenigen Blutstropfen infizierten Mäuse erst nach 13—20 Tagen ein, in einem Falle bereits am 8. Tage. Die Regel blieb in den weitaus überwiegenden Fällen der Tod nach 11 Tagen. Im peripheren Blut sind kurz vor dem Exitus wenig Trypanosomen nachweisbar gewesen bei einer Maus, die am 16. Okt. infiziert wurde und am 27. Okt. einging. Dies war eine mehrmals zu konstatierende Tatsache. Meistens waren die kurz vor dem Exitus getöteten Mäuse noch recht gut infiziert. Einmal wurde eine spontane Infektion bei einer Maus beobachtet, die am 27. Okt. zu 2 gut infizierten Mäusen hineingesetzt wurde. Die ersten Trypanosomen wurden bei dieser zugesetzten Maus am 2. Nov. gefunden. Die Erklärung liegt vermutlich darin, daß die neue Maus von dem Blute der frisch untersuchten Mäuse am Schwanz geleckt hatte und sich so ausnahmsweise infizierte. Weitere in dieser Hinsicht unternommenen Versuche, eine Infektion per os oder per oculos zu erzielen, blieben erfolglos, auch bei versuchter Infektion durch Meerschweinchenblut¹⁾.

Die Infektion von Mäusen auf Meerschweinchen war leicht zu erzielen, ebenso umgekehrt; z. B. eine am 13. Nov. mit Meerschweinchenblut infizierte Maus ist bereits am 21. Nov. gut infiziert, also nach 8 Tagen. Der Exitus kann hierbei später eintreten. So starb eine Maus, die am 13. Nov. vom Meerschweinchen aus infiziert war, erst am 29. Nov., also nach 16 Tagen. Mäuse mit infektiösem Rattenblut gespritzt wurden gut und sicher infiziert; im umgekehrten Falle war diese Tatsache nicht zu konstatieren, wie weiter unten zu erwähnen sein wird.

Gegen Ende der Versuche trat wahrscheinlich infolge der zahlreichen Passagen eine Abnahme der Virulenz ein. So war eine Maus, die am 13. Dez. von einer gut infizierten Maus gespritzt worden war, am 30. Dez., also nach 17 Tagen, noch immer am Leben, tot am 2. Jan., nach 20 Tagen.

2 Mäuse, die am 10. Dez. von einer Ratte aus infiziert wurden, sind am 8. Jan. noch am Leben, also nach 29 Tagen, und relativ gut infiziert, am 14. Jan. tot, nach 3 Wochen. Der Exitus tritt bei der Infektion von Maus zu Maus häufig erst nach 20 Tagen ein.

Was die Infektion von Meerschweinchen anbelangt, so liegen hierüber bereits von Chagas Angaben vor. Die Infektion von Maus

1) Brumpt (1912) erzielte positive Augapfelinfektionen bei *Cercopithecus ruber*, den er überhaupt als am meisten sensibel bezeichnet.

auf Meerschweinchen ist nach ca. 8 Tagen nach meinen Versuchen bereits im peripheren Blute nachweisbar. Der Tod tritt etwa erst in 3 Wochen ein. Die Infektion der Ratten mit *Schizotrypanum* von Mäusen aus gelang anfangs nicht trotz starker Infektion. Vom Meerschweinchen aus trat bei jungen Ratten die Infektion nach 6 Tagen auf, häufig auch erst später. Beispielsweise wurde am 28. Nov. eine Ratte vom Meerschweinchen aus infiziert, am 7. Dez. traten die ersten Trypanosomen im peripheren Blute auf, am 13. Dez. war die Infektion ziemlich stark. Der Tod trat gewöhnlich nach 12–20 Tagen ein. Die Vermutung, daß es nicht möglich wäre, das *Schizotrypanum* von Mäusen aus auf Ratten zu übertragen, bestätigte sich nicht. Es gelang vielmehr in einer Reihe von Versuchen positive Resultate zu erzielen.

Ein Kaninchen wurde am 13. Nov. vom Meerschweinchen aus infiziert, am 25. Nov. nochmals subkutan von einer Maus, die stark infiziert war. Am 2. Dez. waren die ersten Trypanosomen nachweisbar. Der Tod trat ein am 10. Dez., also nach 25 Tagen.

Die Infektion eines Hundes gelang gleichfalls. Der Hund wurde am 22. und 25. Nov. infiziert, am 7. Dez., also nach 14 Tagen, war die Infektion nachweisbar. Der Tod trat ein am 18. Dez., nach 20 Tagen.

Endlich wurde am 13. Dez. auch eine junge Katze infiziert, die sich am 23. Dez. sehr schwach infiziert erwies, also nach 13 Tagen. Später ging die Infektion wieder zurück.

Damit sind die positiven Infektionsversuche auf einheimische Tiere erschöpft. Es gelang nicht *Schizotrypanum* zu übertragen auf Kanarienvogel, Frösche und Eidechsen.

Als ein erwähnenswertes Nebenresultat ergab sich ein Fall von Immunität. Eine der Stammmäuse vom 26. Okt. überstand die Infektion und wurde am 4. Nov. reinfiziert. Diese Infektion ging jedoch nicht an, es waren keine Trypanosomen nachweisbar. Mit *Tryp. Brucei* infiziert, trat der Tod bei dieser Maus am 4. Tage ein. Auch ein zweiter Fall ergab eine ähnliche Resistenz der Maus.

Eine Vererbung des *Schizotrypanum* wurde bisher bei den Versuchstieren nicht konstatiert. Eine am 16. Nov. vom Meerschweinchen aus infizierte Maus bekam am 27. Nov. 3 Junge, die keine Trypanosomen hatten. Die Alte war relativ gut infiziert.

Eine weitere infizierte Maus bekam am 14. Jan. 6 Junge, die ebenfalls nicht infiziert waren.

II. Cytologische Befunde.

Die cytologischen Befunde erstrecken sich auf eine genaue Untersuchung der vegetativen Formen im Blute von Mäusen, Ratten und Meerschweinchen. Irgendwelche Unterschiede in verschiedenen Wirtstieren konnten nicht festgestellt werden. Die sogenannten „männlichen“ und „weiblichen“ Formen nach Chagas scheinen mir durch Uebergangsformen verbunden zu sein. Die schmalen Formen (Fig. 5, 8, 9) sind wahrscheinlich junge Formen, die breiten ausgewachsene und solche, die vor einer Teilung stehen. Bei einem Meerschweinchen auf dem Höhepunkt der Infektion kamen die letzteren fast ausschließlich vor. Teilungen sind abgebildet in Fig. 7 und 15. Die Teilung in Fig. 7 stammt aus einem Blutpräparat der Maus, die in Fig. 15 aus der Bauchhöhlenflüssigkeit 2 Stunden post mortem. Entgegen früheren Angaben kommt also Teilung im peripheren Blutkreislauf vor. Als Uebergangsformen zu den breiten Individuen sind Fig. 1–3 anzusehen. Fig. 11 und 12 stellen

Formen aus der Ratte dar. Charakteristisch für die schmalen Formen ist das lang ausgezogene Hinterende. Bei den breiten Formen läuft es mehr stumpf kegelförmig zu. Der Kern der langen Formen ist oft schwer zu erkennen und wird gewöhnlich nach anderen Autoren als ein länglicher, mit Giemsa stark gefärbter Körper in der Mitte des Tieres gezeichnet. Nach gut differenzierten Heidenhain-Präparaten tritt er oft als deutlicher kleiner Karyosomkern hervor (Fig. 8). Meist scheint er sich bandartig aufzulockern, und die chromatische Substanz erfüllt den Körper der Breite nach (Fig. 5). Angebliche Kerne werden vorgetauscht durch die Volutinkörper, die zahlreich in der Trypanosomenzelle aufgespeichert sind. In Fig. 4 ist diese Reservestoffsubstanz als fein granulierte Masse erkennbar gleich vor dem Hauptkern gelegen, in Fig. 6 und 13 als großes kompaktes Korn (der Kern ist in Fig. 6 nicht sichtbar) und in Fig. 9 als ringförmiges Gebilde, wobei ich unentschieden lassen möchte, ob es sich hier nicht um einen aufgeblähten Hauptkern handelt. Die Fig. 14 und 15 enthalten mehr kleine Volutinkörper. Der Hauptkern in Fig. 1 und 7 befindet sich in promitotischer Teilung. In Fig. 15 ist das Ende der Teilung gut zu erkennen. Die Teilungen in der Bauchhöhlenflüssigkeit gemischt mit dem Blut aus verschiedenen Organen 2 Stunden post mortem des Tieres waren häufig zu finden. Vielleicht handelt es sich dabei um eine Steigerung der vitalen Prozesse kurz vor dem Absterben der Trypanosomen. Ob Fig. 13 den Beginn einer Zweiteilung mit bereits geteilten Blepharoplasten vorstellt, vermag ich nicht mit Sicherheit anzugeben.

Die Angabe von Chagas (1911) „que la schizogonie de *Schizotrypanum Cruzi* dans l'organisme de l'homme et des animaux de laboratoire représente la multiplication des formes sexuées et est par conséquent une gametogonie“ muß ich dahingestellt sein lassen, da mir Stadien der auch bereits von Hartmann (1910) beobachteten Schizogonie im Laufe der kurzen Untersuchung nicht aufgefallen sind. Jedenfalls stimme ich mit Chagas darin überein, daß die „multiplication du parasite dans les tissus“ und im Blute (nach eigenen Beobachtungen) „représente une division asexuée qui détermine l'augmentation du nombre des flagellées dans la circulation de l'animal infecté“.

III. Infektionsversuche durch Insekten.

Bei den Infektionsversuchen mit einheimischen Insekten handelte es sich darum, einen anderen Ueberträger zu finden als *Conorhinus*. So wurden denn Uebergangsversuche mit Wanzen, den gewöhnlichen Bettwanzen, angestellt, ohne jeden positiven Erfolg¹⁾.

Die Methode der Einzelbeobachtung nach Nöller (1912) durch Einspannen eines Tieres in eine Silberdrahtschlinge wurde hierbei verwendet. Eine vorangehende Untersuchung frisch gelieferter Wanzen auf eventuelle Parasiten fiel in etwa 30 Fällen negativ aus. Die an Mäusen und Ratten angesetzten Wanzen ließen im Darm keine Weiterentwicklung der Trypanosomen erkennen. Die auf dem Höhepunkt der Infektion von den Mäusen abgenommenen Flöhe waren niemals mit *Schizotrypanum* infiziert. Auch hier schlugen alle Infektionsversuche fehl. Für Infektionsversuche mit Insekten scheint bei unserem

1) Brumpt (1912) hat eine Entwicklung des *Schizotrypanum* auch in *Cimex lectularius*, *C. Bueti* und *Ornithodoros moubata* festgestellt. Er sagt hierüber folgendes: „l'évolution chez la Tunaie est beaucoup plus rapide que chez les *Conorhinus*, elle s'effectue surtout dans l'intestin postérieur“.

Klima nur der Sommer geeignet zu sein, auch im Hinblick auf ein reicheres Material an Wanzen. Weitere Infektionsversuche mit Wanzen behalte ich mir demnach vor.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Von einheimischen Tieren sind nach den bisher angestellten Infektionsversuchen Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Katzen gegen *Schizotrypanum Cruzi* sensibel. Es ist nicht gelungen, *Schizotrypanum* zu übertragen auf Kanarienvögel, Eidechsen und Frösche.

2) Eine Vererbung findet nicht statt.

3) Die Infektionsversuche mit Insekten fielen negativ aus.

4) Die von Chagas als „männliche“ und „weibliche“ Formen und als Sexualindividuen gedeuteten Parasiten sind vegetative, durch Uebergänge verbundene, Formen.

5) Eine Differenz im cytologischen Aufbau der Trypanosomen aus Maus, Ratte, Meerschweinchen ist nicht aufzufinden.

6) Auch im peripheren Blut und selbst noch 2 Stunden post mortem des Tieres kommen häufig Teilungen vor.

Literaturverzeichnis.

- Chagas, C., Ueber eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des *Schizotrypanum Cruzi*. n. g. n. sp. (Mem. Inst. Osw. Cruz. Bd. 1. 1909.)
- Chagas, C., a) Le Cycle de *Schizotrypanum Cruzi* chez l'homme et les animaux de laboratoire. (Bull. Soc. Path. exot. T. 4. 1911.)
- b) Ein neuentdeckter Krankheitsprozeß des Menschen. (Bericht über die ätiologischen und klinischen Beobachtungen.) (Mem. Inst. Osw. Cruz. Bd. 3. 1911.)
- Vianna, C., Beitrag zum Studium der pathologischen Anatomie der Krankheit von Carlos Chagas (*Schizotrypanose* des Menschen oder parasitäre Thyreoiditis). (Mem. Inst. Osw. Cruz. Bd. 3. 1911.)
- Hartmann, M., Notiz über eine weitere Art der Schizogonie bei *Schizotrypanum cruzi* Chagas. (Arch. f. Protistenk. Bd. 20. 1910.)
- Brumpt, E., a) Pénétration du *Schizotrypanum Cruzi* à travers la muqueuse oculaire saine. (Bull. Soc. Path. exot. T. 5. 1912.)
- b) Le *Trypanosoma Cruzi* évolue chez *Conorhinus megistus*, *Cimex Boueti* et *Ornithodoros moubata*. Cycle évolutif de ce parasite. (Ibid. T. 5. 1912.)

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind bei Zeiß Imm. 0,2 mm und dem Komp.-Ok. 12 mit dem Abbe'schen Zeichenapparat entworfen. Alle Figuren sind nach mit Sublimat-Alkohol fixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Ausstrichpräparaten gezeichnet.

Fig. 1—15 *Schizotrypanum Cruzi*.

Fig. 1—10. Trypanosomen aus der Maus.

Fig. 1—3. Uebergangsformen.

Fig. 4, 6, 10. Breite Formen.

Fig. 5, 8, 9. Schmale Formen.

Fig. 1 und 7. Teilungsstadien.

Fig. 11 und 12. Trypanosomen aus der Ratte.

Fig. 11. Breite Form.

Fig. 12. Schmale Form.

Fig. 13—15. 2 Stunden post mortem der Maus fixiert.

Fig. 15. Fast beendete Teilung.

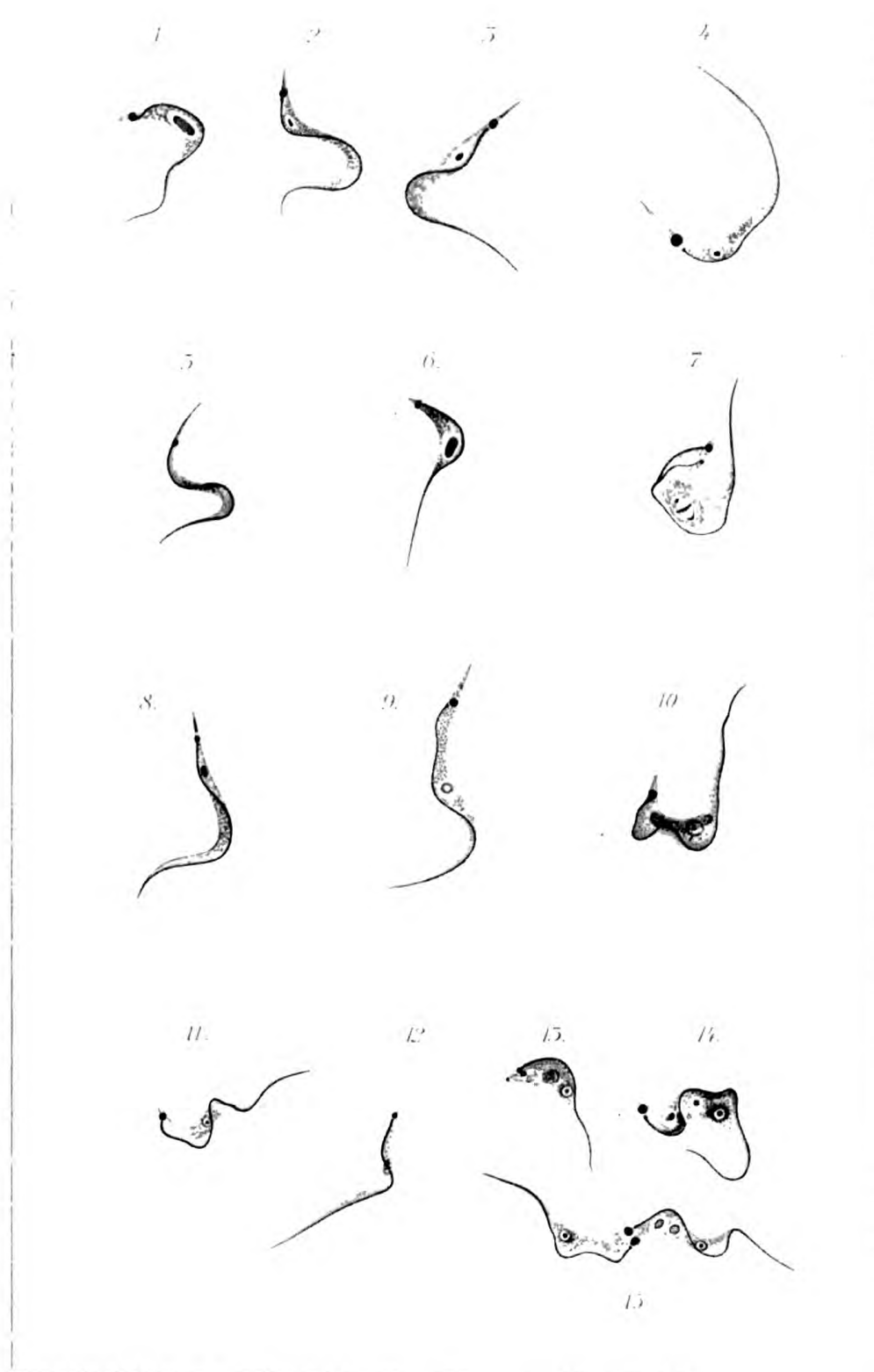


Fig. 1-15. Sarcosporidien.

Fig. 1-15. Sarcosporidien.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Antigene der antibakteriellen Schutzstoffe.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag
(Vorstand: Prof. Bail).]

Von E. Weil.

Die antibakteriellen Immunsera lassen sich in 3 Gruppen sondern, in die bakteriziden, die bakteriotropen und die antiaggressiven. Die Schutzstoffe dieser Immunsera sind sehr scharf voneinander zu unterscheiden. Die bakteriziden Antikörper sind dadurch charakterisiert, daß sie im Tierkörper und im Reagensglase, meist unter morphologisch sichtbaren Veränderungen die Bakterien abtöten, von den Bakterien in starkem Maße spezifisch gebunden werden und am besten wirken, wenn die Infektion und die Immunisierung gleichzeitig vorgenommen wird. Auch die bakteriotropen Immunkörper werden von den Bakterien verankert und wirken ebenfalls, wenn auch nicht in der ausgesprochenen Weise wie die bakteriziden, gleichzeitig am besten. Während nun diesen Schutzstoffen jegliche Bakterizidie fehlt, tritt in eklatanter Weise im Körper und im Glase ihre phagocytosebefördernde Eigenschaft hervor. Auch gelingt es oft im Reagensglase eine Bakterizidie der Leukocyten zu beobachten, die erst bei Anwesenheit des Immunserums hervortritt. Ein wesentlich anderes Verhalten weisen die antiaggressiven Immunsera auf. Im Gegensatz zur starken Wirksamkeit im Tierkörper ist im Glase keinerlei Einfluß auf die Bakterien nachzuweisen. Von Bakterizidie ist auch im Körper nichts zu sehen. Nach Wochen und selbst nach Monaten findet man noch lebende Bakterien, die beim aktiv immunen Tier meist zu unschädlichen Schmarotzern werden. Bei passiv immunisierten Tieren, so bei Schweinerotlauf, ist dieses Ueberleben der Bakterien die Ursache, daß fast sämtliche Tiere (Mäuse) nachträglich der Infektion unterliegen, und zwar zu einer Zeit, wo der Immunserumschutz erloschen ist. Eine weitere Eigentümlichkeit der antiaggressiven Immunstoffe ist, daß sie von den Bakterien nicht verankert werden, so daß sich eine Reaktion zwischen Bakterienleib und Immunkörper nicht nachweisen läßt. Ein sehr wichtiges Merkmal dieser Antistoffe besteht schließlich darin, daß sie einige Zeit vor der Infektion injiziert, besser wirksam sind als bei gleichzeitiger Anwendung.

In Anbetracht der erörterten Verschiedenheit dieser Immunstoffe ist es von Interesse, zu untersuchen, ob sich auch hinsichtlich der Antigene, die zur Ausbildung dieser differenten Antikörper führen, prinzipielle Differenzen aufdecken lassen. Was die Eigenschaften der verschiedenen Antigene betrifft, so ist am besten das bakterizide Antigen untersucht. So konnte Friedberger zeigen, daß bereits geringe Mengen ($\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{100}$ Oese) abgetöteter Typhusbacillen oder Choleravibrionen eine starke Ausbildung von bakteriziden Antikörpern veranlassen, und daß die Antigene dieser Immunkörper durch Temperaturen von 100° nur wenig in ihrer Wirksamkeit abgeschwächt werden. Von den übrigen Antigenen wissen wir in dieser Hinsicht sehr wenig, nur das Pestantigen ist durch seine Labilität gegenüber höheren Temperaturen (100°) ausgezeichnet. Es wäre nun von theoretischer und insbesondere auch von praktischer

Wichtigkeit, die Eigenschaften der übrigen Antigene genauer zu studieren. Eine vergleichende Prüfung der verschiedenen Antigene könnte jedoch nur dann mit Aussicht auf Erfolg durchgeführt werden, wenn die verschiedenen Bakterien, denen die Antigene entstammen, und die zur Immunisierung verwendet werden sollen, eine gleich hohe Virulenz besäßen. Nun wissen wir aber, daß gerade jene Bakterien, welche den bakteriziden Immunkörpern unterliegen, meist nur eine geringe Virulenz besitzen, während diejenigen, gegen welche die antiaggressiven Immunsera wirksam sind, ganz außerordentlich virulent sind. Allerdings weisen manche Bakterien aus der Paratyphusgruppe eine hohe Virulenz insbesondere für Meerschweinchen auf, so daß sie für die vorliegende Untersuchung geeignet erschienen. Doch ist nach der Annahme von Neufeld gerade gegen diese Gruppe die Immunität nicht eine bakterizide, sondern eine bakteriotrope.

Es stand uns ein Schweinepestbacillus zur Verfügung, welcher nach wenigen Passagen in der Dosis von $\frac{1}{1000}$ Oese Meerschweinchen vom Peritoneum aus mit Sicherheit tötete, also bezüglich seiner Virulenz nichts zu wünschen übrig ließ. Nun war es aber notwendig, zu prüfen, ob es leicht gelingt, gegenüber diesem Stamm eine Immunität zu erzeugen, und ob dieselbe auf Bakterizidie beruht. Da in der Literatur mehrfach Angaben vorliegen, daß es überhaupt nicht möglich ist, Meerschweinchen gegenüber Schweinepest dauernd zu schützen, sondern nur eine Lebensverlängerung zu erzielen, so war es auch nötig, diesen Punkt zu berücksichtigen. Wir haben nun eine Anzahl von Meerschweinchen teils mit einer Oese bei 60° abgetöteter Bakterien, teils mit Aggressin subkutan vorbehandelt und hierauf infiziert. Weiter haben wir Kaninchen sowohl mit toten Bakterien, als auch mit Aggressin intravenös injiziert und das Serum auf seine Schutzwirkung geprüft. Wir konnten nun feststellen — wir verzichten auf die Wiedergabe durch Protokolle — daß es sehr leicht gelingt, Meerschweinchen gegen außerordentlich hohe Dosen (1—2 Oesen) zu schützen. Der Verlauf resp. die Unterdrückung der Infektion ging bei den immunisierten Tieren auf die Weise vor sich, daß bereits 20 Minuten nach der Infektion die meisten der injizierten Bakterien verschwunden waren, ohne daß man einen merklichen Einfluß der Leukocyten wahrnehmen konnte. Jedenfalls war zu der Zeit, wo die Leukocyten in größerer Menge in der Bauchhöhle erschienen, von den Bakterien längst nichts mehr zu sehen. Es verhält sich also dieser Keim nicht anders als ein Typhusbacillus oder Cholera vibrio, so daß man mit Sicherheit annehmen kann, daß hier eine reine bakterizide Immunität vorliegt. Mit der hohen Virulenz dieses Mikroorganismus im Zusammenhang kommt es vor, daß nicht alle immunisierten Tiere dauernd überlebten, sondern einige ungefähr nach 1 Woche einer nachträglichen Infektion erlagen. Unter 14 Tieren ist dies 3mal eingetreten.

Da nun auf Grund dieser Versuche der Schweinepestbacillus als Vertreter für die bakterizide Immunität gelten kann und infolge seiner hohen Virulenz für unsere Untersuchung geeignet erscheint, so wäre noch ein passender Vertreter für die bakteriotrope und für die antiaggressive Immunität zu untersuchen. Für erstere konnte der Streptococcus, für letztere der Hühnercholera bacillus gewählt werden. Beide besitzen eine ziemlich hohe Virulenz für Meerschweinchen und bei beiden ist die Art der Immunität sichergestellt.

Die antigenen Eigenschaften der verschiedenen Bakterien wurden nun auf folgende Weise geprüft. Zunächst wurde festgestellt, ob es bei

allen Bakterien gelingt, mit toten Keimen Immunität zu erzeugen. Für die bakterizide Immunität ist dies ja längst sichergestellt, für die beiden anderen Immunitätsarten liegen die Verhältnisse nicht so klar. Die Abtötung wurde auf schonende Weise derart vorgenommen, daß die Emulsionen mit Toluol im Schüttelapparat 12 Stunden geschüttelt wurden. Nach dieser Zeit wurde ausnahmslos Sterilität erzielt. Das Toluol wurde vor der Injektion durch Verdunstung entfernt.

Weiter wurde der Einfluß der Siedehitze auf die verschiedenen Bakterienantigene untersucht, indem die Emulsionen jedesmal $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad gekocht wurden.

Schließlich wurde die Fähigkeit der Antigene, im gelösten Zustande Filter zu passieren, geprüft. Da diese Untersuchung in erster Linie für das Aggressin von Interesse war, so wurde auch die Filtration der übrigen Bakterienantigene nicht mit Kochsalzextrakten vorgenommen, sondern mit den bakterienhaltigen Exsudaten der infizierten Tiere nach der Entfernung der Bakterien durch die Zentrifuge. Sämtliche Filtrationsversuche wurden mit demselben Berkefeld-Filter ausgeführt, welches jedesmal vorher auf seine Keimdichtigkeit geprüft wurde.

Zunächst geben wir die mit Schweinepest angestellten Versuche wieder. Wir haben folgende Gruppen von Meerschweinchen mit Schweinepest immunisiert:

Gruppe I. 5 Meerschweinchen mit 1 Oese Schweinepestbacillen, mit Toluol abgetötet, in einem Zwischenraum von 5 Tagen 2mal subkutan behandelt.

Gruppe II. 5 Meerschweinchen mit 1 Oese auf 100° erhitzter Bakterien 2mal behandelt.

Gruppe III. 5 Meerschweinchen mit 1 ccm zentrifugiertem und mit Toluol sterilisiertem Schweinepestexsudat vom Meerschweinchen subkutan behandelt, und zwar 2 Meerschweinchen 1mal und 3 2mal.

Gruppe IV. 5 Meerschweinchen mit 1 ccm filtriertem und toluolisiertem Exsudat, und zwar 2 1mal und 3 2mal subkutan behandelt.

Titration des Stammes.

Meerschweinchen 1 $\frac{1}{10}$ Oese intraperitoneal.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 2 $\frac{1}{100}$ Oese intraperitoneal.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 3 $\frac{1}{1000}$ Oese intraperitoneal.

Stirbt nach 32 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 4. Passage vorgenommen.

Dieser Versuch lehrt, daß mit $\frac{1}{1000}$ Oese die minimale infektiöse Dosis noch nicht erreicht ist.

Anbei folgen die Infektionsversuche der immunisierten Tiere aus Gruppe I und II. Die Infektion wurde frühestens 10 Tage nach vollendeter Immunisierung vorgenommen.

Versuch I.

Meerschweinchen 4 (Gruppe I, mit Toluol behandelt) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Nur Degenerationsformen.

3 Stunden: Nur Leukocyten, keine Bakterien.

24 Stunden: Nur massenhaft Leukocyten, keine Bakterien. Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 5 (Gruppe II, auf 100° erhitzte Bakterien) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Wie Meerschweinchen 4.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 4.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 4.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 6 (Kontrolle) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Zahlreiche tierische Bakterien.

3 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Infektion wurde mit der 10. Passage vorgenommen.

Versuch II.

Meerschweinchen 7 (Gruppe I) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur massenhaft Leukocyten.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 8 (Gruppe II) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 7.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 7.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 9 (Kontrolle) 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

3 Stunden: Zahlreiche tierische Bakterien.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Die Infektion wurde mit der 13. Passage vorgenommen.

Versuch III.

Meerschweinchen 10 (Gruppe I) 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Keine Bakterien.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur massenhaft Leukocyten.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 11 (Gruppe II) 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Wie Meerschweinchen 10.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 10.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 10.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 12 (Kontrolle) 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

1 Stunde: Zahlreiche tierische Bakterien.

3 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Infektion wurde mit der 10. Passage vorgenommen.

Diese Versuche beweisen klar, wie sicher es gelingt, mit abgetöteten Bakterien eine hohe Immunität zu erzeugen, und weiter geht daraus hervor, daß die Erhitzung auf 100° C eine merkliche Abschwächung bezüglich ihrer immunisatorischen Fähigkeit nicht bedingt hat. Um letzteres jedoch mit aller Sicherheit festzustellen, wurde die Infektion noch schwerer gewählt. Da es aber nicht anging, noch größere Bakterienmengen als 2 Oesen anzuwenden, so war es angezeigt, die Infektion mit den viel virulenteren Bakterien aus dem Tiere selbst vorzunehmen.

Versuch IV.

Meerschweinchen 13 (Gruppe I) 0,25 Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen 12 intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien, nicht tierisch aussehend.

2 Stunden: Keine Bakterien.

5 Stunden: Zahlreiche Leukocyten, einzelne tierische Bakterien.

24 Stunden: Massenhaft Leukocyten, zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 60 Stunden mit massenhaft Leukocyten und Bakterien.

Meerschweinchen 14 (Gruppe II). Infiziert wie Meerschweinchen 13.

Sofort: Wie Meerschweinchen 13.

2 Stunden: Wie Meerschweinchen 13.

5 Stunden: Nur zahlreiche Leukocyten.

24 Stunden: Massenhaft Leukocyten.
Bleibt dauernd am Leben.
Meerschweinchen 15 (Kontrolle). Infiziert wie Meerschweinchen 13.
Sofort: Wie Meerschweinchen 13.
2 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.
5 Stunden:
Stirbt nach 10 Stunden mit "massenhaft" Bakterien in der Bauchhöhle.

Versuch V.

Meerschweinchen 16 (Gruppe I). 0,25 Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen 15 intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien, nicht tierisch aussehend.
2 Stunden: Vereinzelte Bakterien nur in Leukocyten.
24 Stunden: Nur massenhaft Leukocyten.
Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 17 (Gruppe II). Infiziert wie Meerschweinchen 16.
Sofort: Wie Meerschweinchen 16.
2 Stunden: Wie Meerschweinchen 16.
24 Stunden: Wie Meerschweinchen 16.
Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 18 (Kontrolle). Infiziert wie Meerschweinchen 16.
Sofort: Wie Meerschweinchen 16.
2 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.
Stirbt nach 9 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Immunität hielt auch gegenüber der schweren Infektion mit tierischen Bakterien stand und ist auch hier eine Schädigung der erhitzten Bakterien nicht zu konstatieren. Daß Meerschweinchen 13 der nachträglichen Infektion erliegt — gerade das mit unerhitzten Bakterien vorbehandelte Tier — ist wohl nur auf einen Zufall zurückzuführen, und weist auf jenen bereits erwähnten Umstand hin, daß infolge der hohen Virulenz dieser Mikroorganismen die bakterizide Immunität das eine oder andere Mal versagen muß.

Auf folgende interessante Tatsache sei hier hingewiesen. Der Zustand der tierischen Bakterien ist bei unserem Stamm besonders scharf gekennzeichnet. Während die Bakterien der Kultur auffallend kleine und ziemlich dünne Stäbchen darstellen, insbesondere dann, wenn sie sofort nach der Infektion aus dem Tiere entnommen werden, weisen die tierischen Bakterien insofern ein ganz anderes morphologisches Verhalten auf, als sie ein dickes, plumpes, gequollenes Aussehen haben, viel größer sind, so daß es schwer fällt, sie mit den Bakterien der Kultur zu identifizieren. Werden nun diese tierischen Bakterien in ein frisches Tier injiziert, so verändern dieselben, wie unsere Versuche zeigen, bereits nach 5—10 Minuten ihr Aussehen in der Weise, daß sie von Kulturbacillen nicht zu unterscheiden sind. Dies deutet auf eine große Labilität des tierischen Zustandes hin, und beweist die Richtigkeit der Anschauung Bails, welcher in den tierischen Bakterien, im Gegensatz zur allgemeinen Anschauung, nicht sehr widerstandsfähige, sondern sehr labile Gebilde erblickt. Daß dieselben trotzdem eine sehr hohe Virulenz besitzen, ist auf eine ganz andere Ursache zurückzuführen.

Nun folgen die Versuche der mit nicht filtriertem und filtriertem Exsudat behandelten Tiere. Dabei war ganz besonders auffallend, daß die mit nicht filtriertem Exsudat behandelten Tiere eine deutliche Abmagerung aufwiesen und im Wachstum stark zurückblieben, während bei den übrigen Tieren beides vermißt wurde. Es scheint also die endotoxische Komponente der Exsudate durch die Filtration stark verringert zu werden, was vielleicht praktisch nicht unwichtig sein dürfte.

Versuch VI.

Meerschweinchen 19 (Gruppe III). 1 Oese intraperitoneal (nicht filtriert).

Sofort: Massenhaft Bakterien.

20 Minuten: Starke Abnahme.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 20 (Gruppe IV). 1 Oese intraperitoneal (filtriert).

Sofort: Wie Meerschweinchen 19.

20 Minuten: Wie Meerschweinchen 19.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 19.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 19.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 21 (Kontrolle). 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

20 Minuten: Deutliche Abnahme.

3 Stunden: Wenig tierische Bakterien.

6 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhft Bakterien. Die Infektion wurde mit der 6. Passage vorgenommen.

Versuch VII.

Meerschweinchen 22 (Gruppe III). 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

20 Minuten: Starke Abnahme.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 23 (Gruppe IV). 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Wie Meerschweinchen 22.

20 Minuten: Wie Meerschweinchen 22.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 22.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 22.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 24 (Kontrolle). 2 Oesen intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

20 Minuten: Geringe Abnahme.

3 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.

Stirbt nach weniger als 12 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Infektion wurde mit der 8. Passage vorgenommen.

Versuch VIII.

Meerschweinchen 25 (Gruppe III). 0,1 Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen 24 intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien, nicht tierisch.

20 Minuten: Keine Bakterien.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 26 (Gruppe IV). Infiziert wie Meerschweinchen 25.

Sofort: Wie Meerschweinchen 25.

20 Minuten: Wie Meerschweinchen 25.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 25.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 25.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 27 (Kontrolle). Infiziert wie Meerschweinchen 25.

Sofort: Wie Meerschweinchen 25.

20 Minuten: Starke Abnahme.

3 Stunden: Wenig tierische Bakterien.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Sämtliche Tiere der 3 vorangehenden Versuche waren zweimal mit Exsudat behandelt.

Ebensowenig wie die Erhitzung auf 100° C hat die Passage durch keimdichte Filter die immunisatorische Kraft der Schweinepestantigene

verringert. Um die Bedingungen zu verschärfen, haben wir 2 Versuche angestellt, mit Tieren, welche nur einmal mit filtriertem und nicht filtriertem Exsudat vorbehandelt waren.

Versuch IX.

Meerschweinchen 28 (Gruppe III). 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien.

20 Minuten: Nur vereinzelte Bakterien.

6 Stunden: Nur Leukocyten.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 29 (Gruppe IV). 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Wie Meerschweinchen 28.

20 Minuten: Wie Meerschweinchen 28.

6 Stunden: Wie Meerschweinchen 28.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 28.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 30 (Kontrolle). 1 Oese intraperitoneal.

Sofort: Wie Meerschweinchen 28.

20 Minuten: Zahlreiche Bakterien, zum Teil tierisch.

6 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.

Stirbt nach weniger als 15 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Infektion wurde mit der 10. Passage vorgenommen.

Versuch X.

Meerschweinchen 31 (Gruppe III). 0,5 Exsudat von Meerschweinchen 30 intraperitoneal.

Sofort: Massenhaft Bakterien, nicht tierisch.

1 Stunde: Nur Degenerationsformen.

4 Stunden: Nur Leukocyten.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 32 (Gruppe III). Infiziert wie Meerschweinchen 31.

Sofort: Wie Meerschweinchen 31.

1 Stunde: Wie Meerschweinchen 31.

4 Stunden: Wie Meerschweinchen 31.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 31.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 33 (Kontrolle). Infiziert wie Meerschweinchen 31.

Sofort: Wie Meerschweinchen 31.

1 Stunde: Massenhaft tierische Bakterien.

4 Stunden: Massenhaft tierische Bakterien.

Stirbt nach 9 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Die Tiere dieser beiden Versuche waren nur einmal mit Exsudat behandelt.

Wir sehen, daß auch unter diesen Bedingungen ein Verlust der immunisierenden Kraft durch die Filtration nicht nachweisbar ist.

Es geht also aus diesem Teil der Versuche hervor, daß das Antigen für die bakteriziden Antikörper weder durch hohe Temperaturen, noch durch die Filtration eine Abschwächung erleidet, daß ferner eine hohe Immunität durch die einmalige Injektion einer verhältnismäßig geringen Bakterienmenge erzeugt wird. Es unterscheiden sich also nach diesen Richtungen hin ganz wenig virulente Mikroorganismen wie Typhus und Cholera in keiner Weise von so stark infektiösen Keimen wie der hier angewendete Schweinepeststamm.

Nach denselben Prinzipien wurde nun die Immunisierung mit Streptokokken durchgeführt. Von unseren früheren Versuchen her war uns bekannt, daß man zwar durch Behandlung mit abgetöteten Streptokokken von Kaninchen ein Immunserum erhält, doch nur dann, wenn man große Massen mehrmals injiziert. Lebende Streptokokken hingegen erzeugen in ganz geringen Mengen nach einer einmaligen Injektion ein

stark wirksames Schutzserum. Das Antigen ist also in den lebenden Streptokokken in viel wirksamerer Form vorhanden als in den abgetöteten, da erstere in so geringen Mengen, die, wie man leicht nachweisen kann, eine Vermehrung im Körper gar nicht erfahren, die Ausbildung eines stark wirksamen Schutzserums bedingen. Es war also von Interesse zunächst zu prüfen, wie sich Tiere, die nicht in so ausgezeichneter Weise, wie das Kaninchen zur Antikörperbildung geeignet sind, abgetöteten Streptokokken gegenüber verhalten. Wir haben Mäuse und Meerschweinchen gewählt, erstere deshalb, weil der von uns benutzte Aronsonsche Stamm für diese Tiere ungemein virulent ist, und sich Mäuse nur sehr schwer immunisieren lassen und Meerschweinchen aus dem Grunde, weil für sie die Virulenz unseres Stammes keine sehr hohe ist, und es im allgemeinen leichter gelingt, bei diesen Tieren Immunität zu erzeugen.

Die Streptokokken wurden in derselben Weise mit Toluol abgetötet wie die Schweinepestbacillen. Die Quantitäten, die zur Behandlung der Tiere verwendet wurden, waren aber viel größere. Jedes Tier wurde mit dem zentrifugierten Bodensatz von ca. 50 ccm Bouillonkultur, der in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurde, subkutan injiziert. Das gelöste Antigen wurde aus dem Pleuraexsudat infizierter Kaninchen gewonnen, und zwar in der Weise, daß die sehr bakterienreiche Flüssigkeit mit den Streptokokken zusammen 24 Stunden mit Toluol im Schüttelapparat sterilisiert und dann erst zentrifugiert wurde. Auf diese Weise hofften wir eine größere Menge von Streptokokkensubstanz in Lösung zu bekommen. Es wurden folgende Gruppen von Tieren behandelt.

Gruppe A. 5 Mäuse wurden mit je 1 ccm der mit Toluol abgetöteten Streptokokkenemulsion subkutan injiziert.

Gruppe B. 5 Mäuse wurden mit je 1 ccm der auf 100° erhitzten Streptokokkenemulsion 3mal subkutan injiziert.

Gruppe C. 5 Meerschweinchen wurden mit je 1 ccm der mit Toluol behandelten Streptokokkenemulsion 3mal subkutan injiziert.

Gruppe D. 5 Meerschweinchen wurden mit je 1 ccm der auf 100° erhitzten Streptokokkenemulsion 3mal subkutan behandelt.

Gruppe E. 5 Meerschweinchen wurden mit je 1 ccm nicht filtriertem Streptokokkenexsudat 3mal subkutan injiziert.

Gruppe F. 5 Meerschweinchen wurden mit je 2 ccm filtriertem Streptokokkenexsudat 3mal subkutan injiziert.

Versuch XI.

Maus 1 (Gruppe A) 0,01 Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 24 Stunden.

Maus 2 (Gruppe B) infiziert wie Maus 1. Stirbt nach 48 Stunden.

Maus 3 (Kontrolle). Infiziert wie Maus 1. Stirbt nach 24 Stunden.

Infektion mit Passage 1.

Versuch XII.

Maus 4 (Gruppe A) 0,001 Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 30 Stunden.

Maus 5 (Gruppe B). Infiziert wie Maus 4. Stirbt nach 30 Stunden.

Maus 6 (Kontrolle). Infiziert wie Maus 4. Stirbt nach 30 Stunden.

Infektion mit Passage 2.

Versuch XIII.

Maus 7 (Gruppe A) 0,0001 Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 28 Stunden.

Maus 8 (Gruppe B) infiziert wie Maus 7. Stirbt nach 48 Stunden.

Maus 9 (Kontrolle). Infiziert wie Maus 7. Stirbt nach 32 Stunden.

Infektion mit Passage 6.

Versuch XIV.

Maus 10 (Gruppe A) 0,00001 Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 40 Stunden.

Maus 11 (Gruppe B) infiziert wie Maus 10. Stirbt nach 40 Stunden.

Maus 12 (Kontrolle). Infiziert wie Maus 10. Stirbt nach 40 Stunden.

Infektion mit Passage 4.

Versuch XV.

Maus 13 (Gruppe A) 0,0000001 Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 32 Stunden.
Maus 14 (Gruppe B) infiziert wie Maus 13. Stirbt nach 32 Stunden.
Maus 15 (Kontrolle). Infiziert wie Maus 13. Stirbt nach 24 Stunden.
Infektion mit Passage 5.

Diese Versuche lehren, daß die Vorbehandlung mit abgetöteten Streptokokken bei Mäusen entweder gar keinen oder nur einen minimalen Erfolg hatte, da keines der Tiere, auch wenn es mit einer sehr geringen Bakterienmenge infiziert wurde, der Infektion widerstanden hat.

Nun wurde die Infektion der Meerschweinchen vorgenommen. Ein Vorversuch hatte ergeben, daß 0,1 der unpassierten Kultur die Tiere mit Sicherheit tötete, während sie mit 0,01 meist am Leben blieben.

Versuch XVI.

Meerschweinchen 34 (Gruppe C) 0,1 intraperitoneal.
6 Stunden: Zahlreiche Streptokokken.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken in der Bauchhöhle.
Meerschweinchen 35 (Gruppe D) infiziert wie Meerschweinchen 34.
6 Stunden: Wie Meerschweinchen 34.
Stirbt nach 24 Stunden mit demselben Befunde wie Meerschweinchen 34.
Meerschweinchen 36 (Gruppe E) infiziert wie Meerschweinchen 34.
6 Stunden: Wie Meerschweinchen 34.
Stirbt nach 24 Stunden wie Meerschweinchen 34.
Meerschweinchen 37 (Gruppe F) infiziert wie Meerschweinchen 34.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 38 (Kontrolle) infiziert wie Meerschweinchen 34.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken.
Infektion mit der 1. Passage.

Versuch XVII.

Meerschweinchen 39 (Gruppe C) 0,025 intraperitoneal.
24 Stunden: Zahlreiche Streptokokken und massenhaft Leukocyten mit Phagocytose.
48 Stunden: Abnahme der Streptokokken. Lebt.
Meerschweinchen 40 (Gruppe D) infiziert wie Meerschweinchen 39.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken und zahlreichen Leukocyten.
Meerschweinchen 41 (Gruppe E) infiziert wie Meerschweinchen 39.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 42 (Gruppe F) infiziert wie Meerschweinchen 39.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 43 (Kontrolle) infiziert wie Meerschweinchen 39.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken.
Infektion mit der 2. Passage.

Versuch XVIII.

Meerschweinchen 44 (Gruppe C) 0,025 intraperitoneal.
8 Stunden: Keine Streptokokken.
24 Stunden: Nur Leukocyten. Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 45 (Gruppe D) infiziert wie Meerschweinchen 44.
8 Stunden: Mäßig zahlreiche Streptokokken.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken.
Meerschweinchen 46 (Gruppe E) infiziert wie Meerschweinchen 44.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 47 (Gruppe F) infiziert wie Meerschweinchen 44.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 48 (Kontrolle) infiziert wie Meerschweinchen 44.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken.
Infektion mit der 3. Passage.

Versuche XIX.

Meerschweinchen 49 (Gruppe C) 0,025 intraperitoneal.
8 Stunden: Keine Streptokokken.
24 Stunden: Nur Leukocyten. Bleibt am Leben.

- Meerschweinchen 50 (Gruppe D) infiziert wie Meerschweinchen 49.
8 Stunden: Wie Meerschweinchen 49.
24 Stunden: Wie Meerschweinchen 49. Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 51 (Gruppe E) infiziert wie Meerschweinchen 49.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 52 (Gruppe F) infiziert wie Meerschweinchen 49.
Stirbt nach 24 Stunden wie die Kontrolle.
Meerschweinchen 53 (Kontrolle) infiziert wie Meerschweinchen 49.
Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Streptokokken.
Infektion mit der 4. Passage.

In einem letzten Versuche wurde, um zu sehen, ob die 4malige Meerschweinchenpassage die Virulenz erhöht hat, die Infektion mit 0,01 ccm vorgenommen; es blieben jedoch alle Tiere, auch die Kontrolle, am Leben.

Wir sehen, daß auch die Meerschweinchenversuche nicht für eine stark immunisierende Wirkung der abgetöteten Streptokokken sprechen. Gegenüber der nicht einmal 10-fach tödlichen Dosis sind die Tiere nicht geschützt, gegenüber geringeren, zwar sicher tödlichen Mengen sind sie jedoch immun. Hier zeigt sich aber eine ganz deutliche Abschwächung der auf 100° erhitzten Streptokokken, denn von 3 behandelten Tieren sterben 2 (Meerschweinchen 40 und 45). Diesem Umstande ist jedoch keine allzu große Bedeutung beizumessen, daß bei einer derartig schwachen Wirksamkeit schon ganz geringe Schädigungen einen starken Ausschlag geben müssen.

Das Exsudat der infizierten Tiere erweist sich, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, in immunisatorischer Hinsicht vollkommen wirkungslos. Dies steht jedoch in einen Gegensatz zu unseren früheren Versuchen, in welchen es uns leicht gelang, mit Aggressin bei Meerschweinchen aktive Immunität zu erzeugen. Eine Erklärung für diese Differenz dürfte sich leicht darin finden lassen, daß sich gerade die verschiedenen Streptokokken in vieler Hinsicht ganz ungleich verhalten. Bei unserem jetzigen Stamm ist, wie bereits unsere Kaninchenversuche zeigten, das Antigen aus den toten Bakterien sehr wenig wirksam, außerdem läßt sich gegenüber diesem Stamm nur eine bakteriotrope Immunität erzeugen. Es ist nicht unmöglich, daß gegen unseren früheren Stamm auch eine antiaggressive Komponente wirksam war, was aus der leichten Immunisierungsfähigkeit des Aggressins geschlossen werden könnte. Auch Nieter, der unsere damaligen Versuche nachgeprüft hat, konnte gegen seinen Stamm leicht mit Aggressin immunisieren.

Jedenfalls aber zeigen unsere Versuche, daß abgetötete Streptokokken, selbst in sehr großen Massen injiziert, nur sehr schlecht zur Erzeugung von Bakteriotropinen geeignet sind. Ob dies nur für Streptokokken oder gar nur für den hier angewendeten Stamm Gültigkeit hat, läßt sich natürlich auf Grund unserer Versuche nicht mit Sicherheit sagen, hat aber wenig Wahrscheinlichkeit. Gegen Staphylokokken, welche ebenfalls soweit sich bisher feststellen ließ, nur den Bakteriotropinen unterliegen, gelingt es auch nur sehr schwer oder gar nicht, mit abgetöteten Keimen Immunität zu erzeugen, wie die in jüngster Zeit ausgeführten Versuche von Nakano beweisen. Es ist also die Frage, ob alle Mikroorganismen, gegen welche ausschließlich die bakteriotrope Immunität wirksam ist, im lebenden Zustande um so viel besser zur Antikörpererzeugung geeignet sind wie im vorliegenden Falle, noch genauer zu untersuchen, weil sie praktisch von großer Wichtigkeit ist.

Weitere Versuche wurden mit dem Hühnercholera-bacillus als dem Vertreter des antiaggressiven Antigens angestellt. Wir erinnern hier

an die zahlreichen früheren ergebnislosen Versuche, mit abgetöteten Hühnercholeraabacillen zu immunisieren. Erst durch die Entdeckung des Aggressins gelang eine wirksame und starke Immunisierung leicht. Wir konnten jedoch, von der Annahme ausgehend, daß das Aggressin bereits im Bakterienleibe in geringem Grade vorgebildet sein muß, zeigen, daß es möglich ist, ein allerdings schwach wirksames Schutzserum zu erzeugen, wenn man Kaninchen mit sehr großen Massen abgetöteter Bakterien behandelt. Für unsere jetzige Untersuchung war diese Ermittlung aus dem Grunde von Vorteil, weil wir prüfen konnten, wie sich die Hühnercholeraabacillen in immunisatorischer Hinsicht einer Temperatur von 100° gegenüber verhalten. Es wäre nämlich nicht möglich gewesen, das Aggressin auf 100° zu erhitzen. Es wurden zunächst 2 Gruppen von Tieren, und zwar mit gekochten und mit toluolisierten Bakterien behandelt. Wiederum haben wir sowohl Mäuse als auch Meerschweinchen, erstere als sehr, letztere als weniger empfindliche Tiere, immunisiert. Die Hühnercholeraabacillen wurden in denselben Quantitäten angewendet wie die Streptokokken.

Gruppe G. 15 Mäuse wurde 3mal mit je 1 ccm toluolisierter Hühnercholeraemulsion subkutan behandelt.

Gruppe H. 10 Mäuse wurden 3mal mit je 1 ccm auf 100° erhitzter Hühnercholeraemulsion subkutan behandelt.

Gruppe I. 15 Meerschweinchen wurden 3mal mit je 1 ccm toluolisierter Hühnercholeraemulsion subkutan behandelt.

Gruppe K. 5 Meerschweinchen wurden 3mal mit je 1 ccm auf 100° erhitzter Hühnercholeraemulsion subkutan vorbehandelt.

Im Nachfolgenden sind die Infektionsversuche der vorbehandelten Mäuse wiedergegeben.

Versuch XX.

Maus 16 (Gruppe G) 0,01 subkutan. Lebt.
 Maus 17 (Gruppe H) 0,01 subkutan infiziert. Lebt.
 Maus 18 (Kontrolle) 0,01 subkutan infiziert.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 1. Passage.

Versuch XXI.

Maus 19 (Gruppe G) 0,01 subkutan. Lebt.
 Maus 20 (Gruppe H) 0,01 subkutan infiziert. Lebt.
 Maus 21 (Kontrolle) 0,01 subkutan infiziert.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 2. Passage.

Versuch XXII.

Maus 22 (Gruppe G) 0,01 subkutan. Lebt.
 Maus 23 (Gruppe H) 0,01 subkutan infiziert. Lebt.
 Maus 24 (Kontrolle) 0,01 subkutan infiziert.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 3. Passage.

Versuch XXIII.

Maus 25 (Gruppe G) 0,01 subkutan. Lebt.
 Maus 26 (Gruppe H) 0,01 subkutan infiziert. Lebt.
 Maus 27 (Kontrolle) 0,01 subkutan infiziert.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 4. Passage.

Versuch XXIV.

Maus 28 (Gruppe G) 0,01 subkutan. Lebt.
 Maus 29 (Gruppe H) 0,01 subkutan infiziert. Lebt.
 Maus 30 (Kontrolle) 0,01 subkutan infiziert.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 5. Passage.

Im Anschluß hieran teilen wir gleich die Meerschweinchenversuche mit.

Versuch XXV.

Meerschweinchen 54 (Gruppe I) 0,01 intraperitoneal.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 55 (Gruppe K) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 54.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 54.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 56 (Kontrolle) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 12 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Infektion mit dem unpassierten Stamm.

Versuch XXVI.

Meerschweinchen 57 (Gruppe I) 0,01 intraperitoneal.

3 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 58 (Gruppe K) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 59 (Kontrolle) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Infektion mit Passage 1.

Versuch XXVII.

Meerschweinchen 60 (Gruppe I) 0,01 intraperitoneal.

3 Stunden: Keine Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 61 (Gruppe K) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 60.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 60.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 62 (Kontrolle) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Infektion mit Passage 1.

Versuch XXVIII.

Meerschweinchen 63 (Gruppe I) 0,01 intraperitoneal.

3 Stunden: Einzelne Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 64 (Gruppe K) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 63.

24 Stunden: Wie Meerschweinchen 63.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 65 (Kontrolle) 0,01 intraperitoneal infiziert.

3 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 10 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Infektion mit Passage 2.

Das Resultat der hier mitgeteilten Versuche besagt, daß nicht nur die mit Toluol abgetöteten, sondern auch die auf 100° C erhitzten Hühnercholera-bacillen bei Mäusen und Meerschweinchen Immunität erzeugen. Es fragt sich nun, ob man daraus schon den Schluß ziehen kann, daß das Aggressin als Antigen kochbeständig ist. Wir konnten nämlich in früheren Versuchen den Nachweis erbringen, daß im Hühnercholera-immunserum 2 Komponenten wirksam sind, und zwar eine bakterizide und eine antiaggressive. Weiter konnten wir zeigen, daß der bakteri-

ziden im Vergleich zur antiaggressiven Komponente nur eine geringe Bedeutung zukommt, da sie nur eine momentane bakterizide Wirkung ausübt, und zwar so lange, bis der antiaggressive Anteil, der erst nach einiger Zeit wirken kann, die Infektion vollständig unterdrückt. Dies gilt jedoch nur für die passive Immunität, bei der aktiven dürften aber die Verhältnisse anders liegen. Wenn nämlich die abgetöteten Hühnercholerabacillen hauptsächlich nur eine bakterizide Immunität erzeugen würden, so würde diese, da ja das ganze Tier mit bakteriziden Säften durchtränkt ist, trotzdem ausreichen, die Infektion zu unterdrücken. Bei der übertragenen Immunität müßte die rein bakterizide Komponente deshalb versagen, weil die übertragenen bakteriziden Immunkörper bereits nach sehr kurzer Zeit, schon nach Stunden, so sehr abgeschwächt sind, daß sie gegenüber hochvirulenten und sehr widerstandsfähigen Keimen meist machtlos sein werden. Wäre nun in unseren Versuchen durch Immunisierung mit abgetöteten Bakterien hauptsächlich eine bakterizide Immunität zustande gekommen, so könnte man auf Grund der Kochbeständigkeit des Bakterienantigens nicht ohne weiteres schließen, daß dem Aggressin in den Bakterien diese Eigenschaft zukommt, sondern es könnte sehr wohl das bakterizide Antigen dabei die Hauptrolle spielen. Es stand uns auch noch ein Weg offen, diese Frage experimentell zu prüfen. Unserer Annahme entsprechend, daß bei der übertragenen Immunität die bakterizide Immunität wenig Bedeutung haben dürfte, war es von Interesse zu sehen, wie sich das Serum der mit toten Bakterien behandelten Tiere hinsichtlich seiner Schutzkraft verhält. Um die passiv behandelten Tiere unter möglichst günstige Bedingungen zu setzen, haben wir sehr große Serumdosen injiziert. Stets wurde, mit der hohen Empfindlichkeit der Maus rechnend, das Gesamtblut von mehreren immunisierten Mäusen auf eine einzige übertragen, auch wurde jedes Meerschweinchen stets mit der gesamten Blutmenge eines immunisierten Tieres behandelt.

Beifolgende Versuchsprotokolle zeigen das Resultat der Mäuseversuche.

Versuch XXIX.

Die 5 Mäuse der Gruppe G werden nach der überstandenen Infektion, und zwar die jüngste nach 5, die älteste nach 10 Tagen an einem Tage verblutet und mit dem gesamten Blute 2 Mäuse behandelt (Blut G).

Auf dieselbe Weise werden 3 Mäuse der Gruppe H verblutet und das Blut einer Maus injiziert (Blut H).

Maus 31. 0,5 Blut G + 0,01 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 32. 0,5 Blut G + 0,01 Kultur intraperitoneal. Stirbt nach 7 Stunden.

Maus 33. 0,6 Blut H + 0,01 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 34 (Kontrolle). 0,01 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 35 (Kontrolle). 0,001 Kultur intraperitoneal. Stirbt nach 7 Stunden.

Die Infektion wurde mit der nicht passierten Kultur vorgenommen.

Versuch XXX.

8 Mäuse der Gruppe G werden 10 Tage nach der letzten Behandlung, ohne daß sie vorher infiziert wurden, verblutet; das gesamte Blut wird 2 Mäusen injiziert (Blut G).

Auf dieselbe Weise werden 5 Mäuse der Gruppe H verblutet; das gesamte Blut wird einer Maus injiziert (Blut H).

Maus 36. 1,35 Blut G + 0,01 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 37. 1,4 Blut G + 0,001 Kultur intraperitoneal. Stirbt nach weniger als 9 Stunden.

Maus 38. 1,5 Blut H + 0,1 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 39 (Kontrolle). 0,01 Kultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 40 (Kontrolle). 0,001 Kultur intraperitoneal. Stirbt nach weniger als 9 Stunden.

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Wir entnehmen diesen Versuchen, daß das Blut der mit toten Bakterien vorbehandelten Mäuse, selbst in excessis hohen Dosen angewendet, keinen Schutz verleiht, obwohl die Tiere, von denen das Blut stammt, immun sind.

Wir wollen nun sehen, wie sich diesbezüglich Meerschweinchen verhalten.

Versuch XXXI.

Meerschweinchen 66 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 54 (6 ccm) + 0,01 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 67 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 55 (6,5 ccm) + 0,1 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 68 (Kontrolle) 0,01 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Infektion mit der 1. Passage.

Versuch XXXII.

Meerschweinchen 69 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 58 + 0,01 Kultur intraperitoneal.

3 Stunden: Einzelne Bakterien.

6 Stunden: Spärliche Bakterien.

10 Stunden: Zahlreiche Bakterien.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 70 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 60 + 0,01 Kultur intraperitoneal.

3 Stunden: Wie Meerschweinchen 69.

6 Stunden: Wie Meerschweinchen 69.

10 Stunden: Wie Meerschweinchen 69.

Stirbt nach 24 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 71 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 61 + 0,01 Kultur intraperitoneal.

3 Stunden: Einzelne Bakterien.

6 Stunden: Spärliche Bakterien.

10 Stunden: Spärliche Bakterien.

24 Stunden: Nur Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Kontrolltier ist identisch mit Meerschweinchen 65.

Infektion mit der 2. Passage.

Versuch XXXIII.

Meerschweinchen 72 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 63 + 0,01 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Vereinzelte Bakterien.

7 Stunden: Vereinzelte Bakterien.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 73 erhält das Blutserum von Meerschweinchen 64 + 0,01 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Vereinzelte Bakterien.

7 Stunden: Vereinzelte Bakterien.

20 Stunden: Zahlreiche Bakterien und Leukocyten.

Stirbt nach 36 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 74 erhält das Blutserum des nicht infizierten Meerschweinchens der Gruppe I + 0,01 Kultur intraperitoneal.

4 Stunden: Einzelne Bakterien.

7 Stunden: Einzelne Bakterien.

20 Stunden: Massenhaft Bakterien.

Stirbt nach 23 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 75 erhält das Blutserum des nicht infizierten Meerschweinchens der Gruppe K + 0,01 Kultur intraperitoneal.

Nach 4, 7 und 20 Stunden wie Meerschweinchen 75.

Stirbt nach 23 Stunden mit massenhaft Bakterien.

Meerschweinchen 76 (Kontrolle) 0,01 Kultur intraperitoneal.
 4 Stunden: Zahlreiche Bakterien.
 Stirbt nach weniger als 18 Stunden.
 Infektion mit der 3. Passage.

Das viel weniger empfindliche Meerschweinchen verhielt sich insofern anders, als ein Tier am Leben blieb und eines eine Lebensverlängerung aufwies. Der Infektionsverlauf bei den behandelten Tieren war jedoch insofern interessant, als die Vermehrung, die bei den Kontrollen sofort einsetzte, bei ersteren anfangs unterdrückt wurde und erst nach einigen Stunden auftrat. Dies würde in der Tat dafür sprechen, daß hier nur eine bakterizide Komponente wirksam ist, die die anfängliche Wachstumshemmung bedingt, deren Wirkung jedoch nach kurzer Zeit erlischt, so daß jetzt, wenn ein Eingreifen der antiaggressiven Komponente unterbleibt, eine Vermehrung zustande kommen kann. Allerdings kann auch die Bakterizidie so stark sein, daß bei einem von Natur aus widerstandsfähigen Tiere, wie dem Meerschweinchen, das außerdem noch in den Leukocyten Schutzstoffe gegen Hühnercholera besitzt, eine Infektion unter Umständen überhaupt ausbleiben kann, wie es in der Tat bei Meerschweinchen 71 in unserem Versuche der Fall ist. Man könnte allerdings auch annehmen, daß bei unseren Tieren eine Gewebsimmunität vorliegt, die sich mit dem Serum nicht übertragen läßt. Allerdings muß dem entgegengehalten werden, daß es bisher keinen Anhaltspunkt dafür gibt, daß eine histogene Immunität bei solchen Mikroorganismen, die sich im Blute und in den Säften vermehren, überhaupt existiert. Die bisherigen Versuche, die diesbezüglich angestellt wurden, sind nicht einwandfrei, da die Uebertragung der Immunität mit viel zu wenig Serum vorgenommen wurde. Man muß nämlich in Betracht ziehen, daß, wenn ein Tier aktiv immun ist, und die Immunität in den Säften ihren Sitz hat, es die Infektion mit den gesamten ihm zu Gebote stehenden Säften bewältigt. Man könnte also in einem solchen Falle erst dann eine Säfteimmunität leugnen, wenn es auch mit der gesamten Blutmenge nicht gelingt, die Immunität zu übertragen. Selbst dann wäre jedoch, wie wir in den vorliegenden Versuchen zu zeigen versuchen, dieser Schluß noch nicht gerechtfertigt. Man muß nämlich bedenken, daß dem aktiv immunen Tiere, ganz abgesehen davon, daß bei ihm stets ein rascher Ersatz der verbrauchten Schutzstoffe eintritt, noch mancherlei Mittel zu Gebote stehen, über die Schutzstoffe in viel vorteilhafterer Weise zu verfügen, als wenn diese einem fremden Tiere einverleibt werden. Es geht also nicht an, die Vorgänge beim aktiv und passiv immunisierten Tiere in quantitativer Hinsicht in Parallele zu setzen, auch nicht, wenn man, wie in unseren Versuchen, das Blut von mehreren Tieren auf ein einziges überträgt.

Nachdem es sich also auf Grund dieser Experimente nicht mit Sicherheit entscheiden ließ, ob das Aggressin als Antigen kochbeständig ist, so war noch zu untersuchen, wie sich das Aggressin der Filtration gegenüber verhält. Neben den mit filtriertem und nicht filtriertem Aggressin vorbehandelten Tieren wurde gleichzeitig eine Anzahl von Tieren mit großen Massen abgetöteter Bakterien immunisiert. Wenn nämlich das Aggressin unwirksam wird, so könnte man einwenden, daß im zentrifugierten, nicht filtrierten Aggressin die zurückbleibenden Bakterien die Immunität erzeugen. Dieser Einwand wäre jedoch belanglos, wenn sich zeigen ließe, daß die abgetöteten Bakterien schwächer immunisierend wirken als das Aggressin. Es wurden wiederum Mäuse und Meerschweinchen vergleichend untersucht, und zwar folgende Gruppen:

Gruppe L. 10 Mäuse wurden 3mal mit je 0,5 ccm Kaninchenaggressin subkutan behandelt.

Gruppe M. 10 Mäuse wurden 3mal mit je 1 ccm filtriertem Kaninchenaggressin subkutan behandelt.

Gruppe N. 10 Mäuse wurden 3mal mit je 1 ccm Bakterienemulsion subkutan behandelt.

Gruppe O. 5 Meerschweinchen wurden 3mal mit je 0,5 ccm Aggressin subkutan behandelt.

Gruppe P. 5 Meerschweinchen wurden 3mal mit je 1 ccm filtriertem Aggressin subkutan behandelt.

Gruppe Q. 5 Meerschweinchen wurden 3mal mit je 1 ccm Bakterienemulsion subkutan behandelt.

Versuch XXXIV.

Maus 41 (Gruppe L) 0,001 subkutan. Bleibt am Leben.

Maus 42 (Gruppe M) 0,001 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.

Maus 43 (Gruppe N) 0,001 subkutan. Bleibt am Leben.

Maus 44 (Kontrolle) 0,001 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.

Versuch XXXV.

Maus 45 (Gruppe L) 0,01 subkutan. Bleibt am Leben.

Maus 46 (Gruppe M) 0,01 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.

Maus 47 (Gruppe N) 0,01 subkutan. Bleibt am Leben.

Maus 48 (Kontrolle) 0,01 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.

Versuch XXXVI.

Maus 49 (Gruppe L) 0,01 intraperitoneal. Stirbt nach 48 Stunden.

Maus 50 (Gruppe M) 0,01 intraperitoneal. Stirbt nach 6 Stunden.

Maus 51 (Gruppe N) 0,01 intraperitoneal. Stirbt nach 36 Stunden.

Maus 52 (Kontrolle) 0,01 intraperitoneal. Stirbt nach 6 Stunden.

Diese Versuche lehren, daß gegen die subkutane Infektion die abgetöteten Bakterien und das Aggressin gleich gut schützen, das filtrierte Aggressin hingegen sich als vollkommen wirkungslos erweist, obwohl es in der doppelten Dosis angewendet wurde. Bei intraperitonealer Infektion mit der hier angewendeten Infektionsdosis weisen zwar die mit Aggressin und abgetöteten Bakterien behandelten Tiere eine deutliche Lebensverlängerung auf, doch ist der Schutz kein vollkommener. Das mit filtriertem Aggressin behandelte Tier unterscheidet sich in nichts von der Kontrolle. Da bereits in dem letztgenannten Versuche eine Differenz zwischen dem Aggressin- und dem Bacillentier zu merken ist, so wurde bei den weiteren Versuchen nur die intraperitoneale Infektion angewendet, und zwar um einen vollen Schutz zu erzielen, mit geringeren Bakterienmengen.

Versuch XXXVII.

Maus 53 (Gruppe L) 0,000001 intraperitoneal. Bleibt am Leben.

Maus 54 (Gruppe M) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 18 Stunden.

Maus 55 (Gruppe N) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 24 Stunden.

Maus 56 (Kontrolle) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 18 Stunden.

Versuch XXXVIII.

Maus 57 (Gruppe L) 0,000001 intraperitoneal. Bleibt am Leben.

Maus 58 (Gruppe M) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 15 Stunden.

Maus 59 (Gruppe N) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 28 Stunden.

Maus 60 (Kontrolle) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 15 Stunden.

Versuch XXXIX.

Maus 61 (Gruppe L) 0,000001 intraperitoneal. Bleibt am Leben.

Maus 62 (Gruppe M) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 16 Stunden.

Maus 63 (Gruppe M) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 12 Stunden.

Maus 64 (Gruppe N) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 60 Stunden.

Maus 65 (Gruppe N) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 60 Stunden.

Maus 66 (Kontrolle) 0,000001 intraperitoneal. Stirbt nach 12 Stunden.

Versuch XL.

- Maus 67 (Gruppe L) 0,05 subkutan. Bleibt am Leben.
Maus 68 (Gruppe M) 0,05 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.
Maus 69 (Gruppe N) 0,05 subkutan. Bleibt am Leben.
Maus 70 (Kontrolle) 0,05 subkutan. Stirbt nach 18 Stunden.

Sämtliche hier mitgeteilten Versuche mit intraperitonealer Infektion zeigen übereinstimmend, daß die Vorbehandlung mit Aggressin weit wirksamer ist als die mit Bakterien, da wir bei Infektion vom Peritoneum aus bei keinem einzigen der mit Bacillen immunisierten Tiere ein dauerndes Ueberleben erzielen konnten. Die Behandlung mit filtriertem Aggressin hat jedoch auch hier keine Spur von Schutz hinterlassen. Ob durch die Filtration nur ein Teil der antigenen Stoffe zurückgehalten, oder ob das Antigen vollständig unwirksam wurde, werden in viel einwandfreierer Weise die Versuche an den resistenteren Meerschweinchen zeigen, die wir nun mitteilen.

Versuch XLI.

- Meerschweinchen 77 (Gruppe O) 0,25 intraperitoneal.
Stirbt nach 48 Stunden mit spärlichen Bakterien in der Bauchhöhle.
Meerschweinchen 78 (Gruppe P) 0,25 intraperitoneal.
Stirbt nach 8 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.
Meerschweinchen 79 (Gruppe Q) 0,25 intraperitoneal.
Stirbt nach 48 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.
Meerschweinchen 80 (Kontrolle) 0,25 intraperitoneal.
Stirbt nach 8 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Versuch XLII.

- Meerschweinchen 81 (Gruppe O) 0,025 intraperitoneal.
18 Stunden: Nur Leukocyten.
Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 82 (Gruppe P) 0,025 intraperitoneal.
Stirbt nach 18 Stunden.
Meerschweinchen 83 (Gruppe Q) 0,025 intraperitoneal.
18 Stunden: Massenhaft Leukocyten, ziemlich zahlreiche Bakterien.
Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 84 (Kontrolle) 0,025 intraperitoneal.
Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.

Versuch XLIII.

- Meerschweinchen 85 (Gruppe O) 0,01 intraperitoneal.
18 Stunden: Nur Leukocyten.
Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 86 (Gruppe P) 0,01 intraperitoneal.
Stirbt nach 18 Stunden.
Meerschweinchen 87 (Gruppe Q) 0,01 intraperitoneal.
18 Stunden: Nur Leukocyten.
Bleibt am Leben.
Meerschweinchen 88 (Kontrolle) 0,025 intraperitoneal.
Stirbt nach 30 Stunden mit massenhaft Bakterien in der Bauchhöhle.
Die Infektion wurde in allen Versuchen mit dem unpassierten Stamm vorgenommen.

Was nun die Meerschweinchenversuche anlangt, so sehen wir zunächst, daß die übermäßig hohe Infektionsdosis von 0,25 ccm Bouillonkultur nur eine Lebensverlängerung, nicht aber einen vollen Schutz zur Folge hat. Die immunisierende Kraft der toten Bakterien ist zwar auch hier, wie der Infektionsverlauf zeigt, etwas schwächer, aber die Abschwächung ist nicht so ausgesprochen wie in den Mäuseversuchen. Dies hat seine Ursache in der stärkeren Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens. Da uns jedoch, wie bereits erwähnt, in diesen Versuchen am wichtigsten die Feststellung schien, ob die Filtration die antigene Fähigkeit

keit des Aggressins vollständig aufhebt, so haben wir, um die Infektion recht milde zu gestalten, den nicht passierten Stamm verwendet. Auch hierbei sehen wir ein vollständiges Versagen des filtrierten Aggressins in immunisatorischer Hinsicht. Wir haben; um diesbezüglich vollständig sicher zu sein, die Infektion subkutan vorgenommen, damit die Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens recht scharf hervortreten kann.

Versuch XLIV.

- Meerschweinchen 89 (Gruppe O) 0,5 subkutan.
 Nach 24 Stunden kleines Infiltrat.
 Bleibt am Leben.
 Meerschweinchen 90 (Gruppe P) 0,5 subkutan.
 Stirbt nach 24 Stunden mit allgemeiner Sepsis.
 Meerschweinchen 91 (Gruppe Q) 0,5 subkutan.
 Nach 24 Stunden starkes Infiltrat.
 Bleibt am Leben (abgemagert).
 Meerschweinchen 92 (Kontrolle) 0,5 subkutan.
 Stirbt nach 24 Stunden mit allgemeiner Sepsis.

Versuch XLV.

- Meerschweinchen 93 (Gruppe O) 0,1 subkutan.
 Nach 24 Stunden erbsengroßes Infiltrat.
 Bleibt am Leben.
 Meerschweinchen 94 (Gruppe P) 0,1 subkutan.
 Stirbt nach 24 Stunden mit allgemeiner Sepsis.
 Meerschweinchen 95 (Gruppe Q) 0,1 subkutan.
 Nach 24 Stunden starkes Infiltrat.
 Bleibt am Leben (abgemagert).
 Meerschweinchen 96 (Kontrolle) 0,1 subkutan.
 Stirbt nach 48 Stunden mit allgemeiner Sepsis.
 Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Nachdem auch bei dieser gelinden Infektion die mit filtriertem Aggressin behandelten Tiere sich völlig widerstandsunfähig erwiesen haben, so können wir wohl mit Sicherheit behaupten, daß die Filtration die immunisierende Fähigkeit des Aggressins vollkommen aufgehoben hat. Da große Massen toter Bakterien deutlich schwächer immunisierend wirken, als das nicht filtrierte, sondern nur klar zentrifugierte Aggressin, so kann die Wirkungslosigkeit des filtrierten Aggressins nicht darauf beruhen, daß durch die Filtration das Aggressin vollkommener von den Bakterien befreit wurde, als durch das Zentrifugieren.

Zusammenfassung.

Wenn wir das Resultat unserer Versuche zusammenfassend überblicken, so konnten wir für die Antigene der verschiedenen Antikörper charakteristische Eigentümlichkeiten feststellen. So entstehen die bakteriziden Antikörper auf die Injektion geringer Mengen abgetöteter Bakterien, wobei selbst die Erhitzung auf 100° eine merkbare Abschwächung nicht hervorruft. Das Antigen wird durch die keimdichte Filtration in merklicher Weise nicht zurückgehalten.

Die Bakteriotropine werden durch die Einverleibung selbst ungemein großer Bakterienmassen nur in geringem Grade ausgebildet, auch wird das Antigen durch Kochen bereits in merklicher Weise geschädigt.

Die hervorstechendste Eigenschaft des Aggressins hingegen besteht darin, daß durch die Filtration seine immunisierende Fähigkeit vollkommen aufgehoben wird. Abgetötete Bakterien in großen Massen er-

zeugen zwar Immunität, doch läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen, ob dieselbe hauptsächlich auf Bakterizidie oder auf Antiaggressivität beruht.

Es läßt sich auf Grund unserer Versuche nicht entscheiden, ob die hier festgestellten Tatsachen für die genannten Antikörper überhaupt, oder nur für die hier untersuchten Mikroorganismen Gültigkeit haben.

Literatur.

Nakano, Arch. f. Hyg. 1913.
Nieter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56.

Nachdruck verboten.

Können bei Behandlung mit Alkaloiden mit Hilfe des Ablenkungsverfahrens wahrnehmbare Antikörper erhalten werden?

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Parma.]

Von Prof. Dr. **E. Bertarelli** und Dr. **A. Tedeschi**.

Die Frage der Immunisierung mit Hilfe der Alkaloide kann heute in negativem Sinne für gelöst gelten¹⁾. In der Blütezeit der Untersuchungen über die Seitenkettentheorie ist von verschiedenen Seiten versucht worden, die Erscheinungen aktiver Immunität mittels Behandlung mit Alkaloiden zu erhalten. Zu positiven Ergebnissen haben diese Versuche jedoch nicht geführt. Nur ganz wenige Forscher haben sich zu einer andern Anschauung bekannt. Und als dann ein Forscher, der schon der Schule halber, aus der er hervorgegangen ist, für glaubwürdig gehalten werden muß²⁾, die Behauptung aufstellte, daß wenigstens bei Stoffen, die der Struktur nach den Alkaloiden ferne stehen, wie das Rizin, Aggressine nachgewiesen werden können, hat sich dagegen Weichard erhoben mit einer eingehenden Erwiderung, die den ersten Eindruck, den die Untersuchungen zu machen vermochten, ziemlich verschob.

Wir haben einige Orientierungsversuche über diese Frage anstellen wollen, die vor allem den Zweck hatten, uns darüber aufzuklären, ob die Alkaloide sich wie Antigene verhalten können, wenigstens soweit sich darauf aus dem Komplementablenkungsversuche schließen läßt.

1) Als unsere Untersuchungen bereits fast beendet waren, haben wir von den Untersuchungen G. Röriß (Prometheus. Bd. 23. No. 1180. Referat in der Revue scientifique. 1912. No. 17. p. 531) gelesen. Diesem Verfasser soll es gelungen sein, die Maus an das Strychnin zu gewöhnen, indem er ihr Getreidekörner zu fressen gab, die stufenweise ansteigende Mengen Strychnin aufgesaugt hatten. Wir werden bei der ersten sich uns bietenden Gelegenheit derartige Versuche anstellen, erlauben uns aber heute schon das wirkliche Bestehen einer Immunisierung etwas in Zweifel zu ziehen. Was uns zu diesem Zweifel veranlaßte, das ist vor allem der Umstand, daß die Maus die geschälten Körner zu fressen pflegt (womit also derartige Versuche jeder Bedeutung bar sind) sowie die von Röriß selbst erwähnte Tatsache, daß die Angewöhnung innerhalb sehr bescheidener Grenzen stattfindet, wodurch man sich also von dem Vorgang der wirklichen Immunisierungen weit entfernt und höchstens von einer leichten Angewöhnung an das Gift reden kann, derzufolge der Wert der mindesten tödlichen Menge innerhalb ganz bescheidener Grenzen verschoben wird.

2) Tedeschi, E., Die nicht-bakteriellen Aggressine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. p. 725.)

Mit anderen Worten gesagt, war unser Arbeitsplan folgender: Langwährende Behandlung von Versuchstieren mit Teildosen zweier Alkaloide (Morphin, Strychnin), Untersuchung daraufhin, ob im Serum der behandelten Tiere spezifische Antikörper aufgetreten sind, welche die Komplementablenkungerscheinung zu geben vermochten. Im positiven Falle Untersuchung, ob im Serum Stoffe vorhanden sind, die biologisch die Giftwirkung der Alkaloide zu neutralisieren vermögen.

Es sei hier gleich erwähnt, daß die Versuche negativ ausgefallen sind, obgleich sie vielmals durch viele Monate hindurch wiederholt wurden. Wenn wir überhaupt darauf eingehen, so geschieht das nur deshalb, weil mehrere der gemachten Feststellungen uns insofern interessant erschienen, als sie gegen die auch nur theoretische Möglichkeit einer Immunisierung gegen Alkaloide sprechen.

Wie erwähnt, dienten zu unseren Versuchen Morphin und Strychnin. Das Versuchstier war bei allen Versuchen das Kaninchen.

Wir machen darauf aufmerksam, daß bei den auf diesem Wege von anderen Forschern vorgenommenen Versuchen (direkte Versuche zur Feststellung des Entstehens einer etwaigen Immunität gegen die Alkaloide) diese immer auf eine große Schwierigkeit gestoßen waren, die darin bestand, daß der Nachweis des Vorhandenseins von Antikörpern die Bewertung des Schutz- und Heilvermögens des Serums der behandelten Tiere zur Basis hatte, was also die Kenntnis der tödlichen Mindestdosis des Alkaloids voraussetzte.

Nun schwanken aber die tödlichen Mindestmengen auch bei den verschiedenen Individuen einer und derselben Tierart so leicht, daß eine solche Bewertung außerordentlich schwer fällt.

Mit einem Versuch jedoch, wie der der Komplementablenkung wird diese Gefahr umgangen. Es erschien uns also logisch, von ihr auszugehen (und soweit wir die Literatur übersehen können, ist dieser Versuch bis heute noch nicht gemacht worden), um festzustellen, ob die Alkaloide imstande sind, zu Immunitätsreaktionen zu führen.

Zu den ersten Versuchen wurde salpetersaures Strychnin verwandt. Es wurden Lösungen von salpetersaurem Strychnin hergestellt und diese öfters erneuert, wobei immer derart verfahren wurde, daß auf jeden Kubikzentimeter Lösung 0,5 mg Salz kam. Man beachte, daß bei hypodermatischer Injektion die tödliche Menge Strychnin = 0,0006 g pro Kilogramm des Tieres beträgt.

Wir geben hier die Buchungsangaben von zirka einem Dutzend behandelter Tiere nicht wieder. Es genügt hier, daran zu erinnern, daß niemals weniger als 3 kg schwere Tiere zur Verwendung kamen, daß die subkutanen Einspritzungen mit Zeitabständen von 7—8 Tagen stattfanden, daß mit weniger als 0,2 mg pro Kilogramm des Tieres begonnen und selbst nach zehnwöchentlicher Behandlung die tödliche Mindestdosis nicht erreicht wurde.

Nun haben wir aber dabei immer Gifthäufungserscheinungen beobachtet. Allerdings war die Schnelligkeit der Häufung und die Empfindlichkeit für das Alkaloid bei den verschiedenen Tieren nicht dieselbe, immer aber begannen die Vergiftungserscheinungen an einem gewissen Zeitpunkt, setzten bei den Hinterfüßen ein und verbreiteten sich von da über den ganzen Körper.

Trotzdem wurde zur Bestimmung der Komplementablenkung geschritten, und zwar mit einem Tier, das gut 4 Monate lang in Behandlung gestanden und während dieser Zeit mit der äußersten Vorsicht be-

handelt worden war. Beim Auftreten der ersten Vergiftungsanzeichen wurde beim Kaninchen zum Aderlaß geschritten.

Die Komplementablenkungsproben wurden reihenweise ausgeführt, die Antigenmengen verschieden gewählt und als Antigen Lösungen oder Kristalle verwandt; ferner wurde mit anderen in derselben Weise verwandten Alkaloiden nachgeprüft, mit verschiedenen Serummengen experimentiert und zu den Versuchen das hämolytische System von Hammeln mit Meerschweinchenkomplement herangezogen.

Der direkte Versuch, spezifische Antikörper mit der Komplementablenkung aufzudecken, ist beständig negativ ausgefallen, wenngleich auch in der Wahl der Mengen der verschiedenen Reagentien sehr verschieden verfahren wurde. War das Antigen in geringer Menge vorhanden, so kam es nie zur Komplementablenkung, wurde die Antigenmenge aber reichlich, so ließ sich eine Komplementablenkung auch ohne das Vorhandensein des Serums des immunisierten Tieres erzielen. Mit anderen Worten ausgedrückt, besaß das Antigen an und für sich dem Komplement gegenüber Bindungsvermögen.

Der Schluß, den wir daraus zu ziehen vermögen, ist, daß es dem Strychnin gegenüber auch bei Verwendung nach langer Behandlung erhaltener Immunseren nicht gelingt, im Immunserum vermittle der Komplementablenkung wahrnehmbare Antikörper nachzuweisen.

Ein zweites Los kräftiger Kaninchen wurde zu den Immunisierungsversuchen gegen Morphin verwandt. Es wurde dabei immer mit Mengen von 0,5 mg (jedes der Kaninchen wog über 3 kg) begonnen, und nur bei 2 Tieren gingen wir nach langer Behandlung (die Einspritzungen wurden mit Zeitabständen von je 7 Tagen wiederholt) bis zur Einspritzung von 1 mg auf einmal.

Auch hierbei trat zuweilen die Häufungserscheinung zutage, obgleich alles das, was wir über die Verhältnisse beim Menschen kennen, anders zu denken erlaubt. Auf jeden Fall hat von den verschiedenen der Behandlung unterworfenen Kaninchen nur eines länger als 8 Monate immunisiert werden können. Zuweilen verendete das Tier sehr rasch ohne erklärliche Ursache (auch der Sektionsbefund lieferte keine andere einleuchtende Erklärung) nach einer einzigen Morphininjektion. Für diese Erscheinung läßt sich wohl kaum eine andere Erklärung finden, als die Einwirkung der Alkaloidhäufung.

Wie erwähnt, hat ein Tier die Behandlung 8 Monate lang ausgehalten. Nach 12-tägiger Ruhe wurde an ihm ein Aderlaß und mit dem Serum unter Veränderung der Dosen des Antigens und des Immunserums Komplementablenkungsversuche vorgenommen. Doch bei keinem Versuche ließen sich mit der Komplementablenkungsmethode nachweisbare Antikörper feststellen.

Alles zusammenfassend, sind also die Versuche, mit Strychnin und Morphin mit Hilfe der Komplementablenkung wahrnehmbare Antikörper hervorzurufen, fehlgeschlagen.

Nachdruck verboten.

Ueber Ludwig Bitters Chinablaunährböden zur Typhusdiagnose.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer).]

Von Dr. med. **Theodor Bongartz.**

In Heft 4 des 59. Bandes dieser Zeitschrift veröffentlichte L. Bitter-Kiel unter dem Titel: „Zur Methodik des Typhusbakteriennachweises in Stuhl und Urin“ eine Abhandlung, in der er seine Erfahrungen mit einem neuen, von ihm zusammengestellten Nährboden zur Erleichterung der Typhusdiagnose mitteilte. Bis ins Jahr 1911 hinein wurde in Kiel zur Untersuchung typhusverdächtigen Materials neben der bewährten Drigalski-Platte und neben dem Lentz-Tietzschens „Altmalachitgrünagar“, der Malachitgrün zur Hemmung der Konkurrenzbakterien enthält, der Loefflersche „Neumalachitgrün-Nährboden“ benutzt, in dem außer Malachitgrün noch Nutrose und Galle enthalten ist. Die Untersuchungsmethode mit Hilfe dieses „Neumalachitgrünagars“ hatte sich im Kieler Untersuchungsamte sehr bewährt, wie auch Bitter damals sagte, daß „der Loefflersche Nährboden in Verbindung mit dem von v. Drigalski ohne Abschwemmung Vorzügliches leistet und in 48 Stunden meistens schon eine sichere Diagnose gestattet“. Allerdings sei dies nur möglich, so sagt Bitter weiter, „bei genauer Kenntnis des morphologischen Verhaltens der Typhuskolonien auf der Loeffler-Platte“, die eine fleißige Beobachtung und Bearbeitung der verdächtigen Kolonien zur Voraussetzung habe. In sehr eiligen Fällen wie auch während einer Epidemie, wo eine schnelle Diagnose von größter Wichtigkeit ist, gestattet daher die Methode nur dem ganz sicheren Praktiker eine schnelle Entscheidung, während sie für den weniger geübten Beurteiler infolge des nicht ganz hervorstechend charakteristischen Verhaltens der Typhuskolonien auf der Loeffler-Platte ziemlich zeitraubend ist.

Diese Erwägung und das Bestreben, die Typhuskolonien leichter kenntlich zu machen, veranlaßten Bitter, einen Nährboden zusammenzustellen, auf dem die Typhuskolonien ziemlich leicht zu finden waren, der aber dabei nicht allein dem Prinzip der Vereinfachung in der Beurteilung der gewachsenen Kolonien, sondern auch — und das ist nicht unwichtig — dem Prinzip der Vereinfachung in der Herstellung des Nährbodens selbst entsprach. Diesen Prinzipien am nächsten schien ihm der erprobte Lentz-Tietzsche Malachitgrünagar zu stehen, wenn durch eine Modulation dieses Nährbodens die Abschwemmung auf die Drigalski-Platte überflüssig und ausgeschaltet würde. Diese Modulation und die Erfüllung der damit angestrebten Bedingungen hat Bitter in einfacher Weise mit seinem Chinablaumalachitgrünagar erreicht. Seine Angaben über Herstellung und Bearbeitung dieses Nährbodens darf ich hier wohl in gedrängter Form wiederholen:

Zu einem 2- oder 3-proz. Fleischwasser-Pepton-Kochsalz-Agar, der bis zum Lackmuspunkte mit Normalnatronlauge neutralisiert ist, setzt man 2 Proz. Milchsüßholz, kocht einige Minuten und fügt dann zu 100 ccm

des heißen Agars 9 Tropfen einer gesättigten, wässerigen (ca. 10-proz.) Chinablaulösung. Nach diesem Blauzusatz fügt man zu derselben Menge Agars noch 2,5 ccm einer 0,1-proz. Malachitgrünlösung, sterilisiert 10 Minuten im Dampftopf und gießt in nicht zu dünne Platten aus. Auf dem Nährboden wachsen alle Säurebildner lebhaft blau, während die Nichtsäure- oder Alkalibildner farblose oder gelbliche Kolonien bilden. Die Technik der Aussaaten, wie sie noch heute im Kieler Untersuchungsamte gehandhabt wird, ist folgende: Zur Aussaat von Stuhl benutzt man drei, von Urin zwei kleine, gut getrocknete Platten, die man mit dem Material in der Weise beschickt, daß man auf die erste Platte eine etwa linsengroße Probe von dem zu untersuchenden Stuhl bringt, mit einem Glasspatel auf der einen Hälfte der Platte gehörig verreibt und dann mit der Kante des Spatels die andere Hälfte beimpft. Mit demselben Spatel wiederholt man die Aussaat, ohne neues Material zu nehmen, auf der zweiten und zuletzt auf der dritten Platte. So erzielt man eine gute Verteilung, die unerlässlich ist, da die Coli-Bakterien auf dem Bitterschen Agar infolge des Zuckerzusatzes üppiger wachsen als auf der ursprünglichen Altmalachitgrünplatte. Bei Urinaussaaten werden einige Tropfen des Materials auf die erste Platte gebracht und dann in der gleichen Weise auf beiden Platten verteilt wie bei Stuhlaussaaten. Außerdem wird bei Urin noch eine kleine Drigalski-Platte benutzt wegen des meist spärlichen Gehaltes des Urins an anderen Bakterien, und bei Stuhl- und Urinproben je eine Altmalachitgrünplatte, die nach 16—24-stündiger Bebrütung noch weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen bleibt, um eine etwaige Wallbildung, die hier bei frisch isolierten Paratyphuskolonien mit Sicherheit und besonders schön auftritt, zu beobachten. Auf der Chinablaumalachitgrünplatte, oder, wie sie kurz genannt wird, Bitter-Platte kann man schon nach 16—24-stündiger Bebrütung (am 2. Tage) etwa vorhandene farblose Kolonien sehr gut erkennen und die orientierende Agglutination vornehmen. Gleichzeitig überträgt man von mindestens 6 der verdächtig erscheinenden Kolonien, die man numeriert hat, etwas auf eine kleine, in ebenso viele numerierte Felder eingeteilte Drigalski-Platte. Die Heranziehung dieser Drigalski-Platte rät Bitter dringend an, weil einmal bei einer kürzeren Bebrütungsdauer der Bitter-Platten einige Kolonien noch farblos erscheinen könnten, die später deutlich blau würden, und weil andererseits zu Beginn des Arbeitens mit dem neuen Nährboden das Herausfinden der Typhuskolonien aus den etwa vorhandenen, gleichfalls farblosen Proteus-, Pyocyaneus- und Alcaligenes-Kolonien auf demselben weniger leicht gelingen würde als auf der Drigalski-Platte. Nach weiterer 16—24-stündiger Bebrütung hat man (am 3. Tage) auf der Drigalski-Platte eine kleine Reinkultur der verdächtigen Kolonien, die man schon zur definitiven Agglutination heranziehen kann. Meistens wird allerdings, besonders in nicht eiligen Fällen, zur endgültigen Agglutination für den folgenden (den 4.) Tag auf ein Schrägagar-, ferner aber auch noch auf ein Peptonwasser- (Indol-) und ein Neutralrot-Traubenzuckeragarröhrchen übergeimpft.

Mit Hilfe der orientierenden Agglutination kann also die Diagnose auf Typhus schon in 24 Stunden gestellt werden, und für den Fall, daß diese negativ ausfällt, vermittelt der Reinkultur auf der Drigalski-Platte sicher in 48 Stunden. Paratyphuskolonien bilden auch auf der Bitter-Platte nach 16—24-stündiger Brut- und weiterer 16—24-stündiger Zimmertemperatur deutliche Wälle.

Daß Bitter sich in seinen Erwartungen bezüglich des Chinablau-Malachitgrünährbodens nicht getäuscht hatte, zeigen seine damaligen vergleichenden Resultate mit dem Loeffler-Agar und dem Bitter-Agar bei 30 sicheren Typhusfällen, wie aus folgender, Bitters Arbeit entnommenen, nach Krankheitswochen geordneten Tabelle hervorgeht:

Krankheits- woche	Züchtung aus Faeces				Züchtung aus Urin			
	Malachitgrünagar		Chinablauagar		Malachitgrünagar		Chinablauagar	
	zu- sammen	positiv	zu- sammen	positiv	zu- sammen	positiv	zu- sammen	positiv
1.	9	1 = 11,1 %	9	1 = 11,1 %	9	0	9	0
2.	16	8 = 50,0 %	16	8 = 50,0 %	15	3 = 20 %	15	3 = 20,0 %
3.	9	7 = 77,7 %	9	9 = 88,8 %	8	2 = 25 %	8	3 = 37,5 %
4.	2	0	2	1	2	1	2	2

Während einer Ende 1912 und Anfang 1913 in Kiel herrschenden Typhusepidemie hatte ich Gelegenheit, den Bitter-Agar nachzuprüfen. Von allen mir zur Verfügung stehenden Fällen habe ich nur diejenigen herausgegriffen, von denen ich einerseits mit einiger Sicherheit den Beginn der Erkrankung und somit die Krankheitswochen ermitteln konnte, und die sich andererseits durch eine positive Blutprobe (Blutkultur oder Widalsche Reaktion) als sichere Typhusfälle erwiesen hatten. Die Ermittlung der Krankheitswochen war zum Vergleich mit den Bitterschen Ergebnissen notwendig. Bezüglich der Diagnose aus dem Blute möchte ich einflechten, daß ich mit Bitter der Ansicht bin, daß zur ursprünglichen Diagnose des Typhus die Diagnose aus Stuhl und Urin von nicht so bedeutendem Werte ist wie zum Nachweis der Bakterien im Verlaufe der Krankheit und zur Ermittlung von Bacillenträgern und Dauerausscheidern. Zur ursprünglichen Diagnose bietet vielmehr die Züchtung der Bakterien aus dem Blute mit und ohne Anreicherung in Galle und die Feststellung des Agglutinationstiters viel größere Sicherheit. Während dieser Epidemie gelang uns der Bakterienachweis aus dem Blute durch Kultur oder Widalsche Reaktion bei allen uns zur Untersuchung auf Typhus eingesandten Blutproben, soweit sie von nachher auch klinisch sicheren Typhuskranken stammten, also bei 100 Proz.

Bei 22 von mir mit dem Bitter-Agar untersuchten Fällen ergaben sich folgende Resultate:

Von 35 Stuhlaussaaten waren 21 positiv, also 60 Proz.

Von 32 Urinaussaaten waren 9 positiv, also 28,1 Proz.

Auf die einzelnen Krankheitswochen verteilen sich die Ergebnisse folgendermaßen (s. Tabelle p. 231).

Daß meine Ergebnisse bei den Stuhlaussaaten in der 3. Woche 75 Proz. nicht übersteigen, mag daran liegen, daß mir bei Fall 10 und 16 in der 3. Woche desinfizierte Stühle geschickt wurden, die für die Berechnung nicht in Betracht kommen konnten.

Trotzdem können diese Resultate, wenn sie auch von denen Bitters etwas abweichen, als recht befriedigende angesehen werden, zumal da sie in ihren Prozentsätzen die Bitterschen Beobachtungen mit der Loeffler-Platte fast alle übersteigen, mit Ausnahme der Ergebnisse der Urinaussaaten in der 2. Woche und der Stuhlaussaaten in der 3. Woche, wohl aus obigen Gründen.

No.	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche	
	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin
1	.	.	+	—
2	.	.	+	—
3	—	.	—	—	—	—	—	—
4	—	+
5	—	—	—	—	.	.	+	+
6	.	.	+	+	+	+	+	+
7	+	.	.	.	—	—	—	—
8	—	—	+	+
9	+	—	.	.
10	.	.	+	+
11	.	.	—	—	.	.	—	+
12	.	.	+	—
13	+	—	.	.
14	+	—
15	.	.	+	—
16	.	.	+	—
17	—	—	—	—
18	.	.	+	—	+	+	.	.
19	+	—	.	.
20	.	.	—	—	.	.	+	—
21	.	.	+	—
22	+	.	.	.

Oder zusammengestellt:

Krankheits- woche	Züchtung aus Faeces		Züchtung aus Urin	
	zusammen	positiv	zusammen	positiv
1.	4	1 = 25,0 %	2	0
2.	14	9 = 64,3 %	14	2 = 14,3 %
3.	8	6 = 75,0 %	7	2 = 28,5 %
4.	9	5 = 55,5 %	9	5 = 55,5 %

Den Ergebnissen Bitters gegenübergestellt bekommen wir folgende Verhältnisse:

Krankheits- woche	Züchtung aus Faeces			Züchtung aus Urin		
	Malachit- grünagar	Chinablau- agar	Chinablau- agar	Malachit- grünagar	Chinablau- agar	Chinablau- agar
1.	11,1 %	11,1 %	25,0 %	0	0	0
2.	50,0 %	50,0 %	64,3 %	20 %	20,0 %	14,3 %
3.	77,7 %	88,8 %	75,0 %	25 %	37,5 %	28,5 %
4.	0 von 2 Fällen	1 von 2 Fällen	55,5 %	1 von 2 Fällen	2 von 2 Fällen	55,5 %

Das während der Kieler Typhusepidemie eingesandte Material gab mir weiterhin eine günstige Gelegenheit, einen von Bitter neuerdings empfohlenen Nährboden zu erproben, der als Ersatz für den Drigalski-Conradischen Lackmus-Milchzucker-Agar eintreten kann. Ich erwähnte vorher bei Angabe der Technik der Typhusaussaaten, daß wir bei Urinproben eine Drigalski-Platte (Drigalski I genannt) und beim Uebertragen von verdächtigen Kolonien aus Stuhl- und Urinaussaaten eine zweite Drigalski-Platte (Drigalski II) benutzen. Die Drigalski-Platte kommt ferner noch bei der oft erwähnten Typhusblutaussaat in der Weise zur Anwendung, daß ein Teil des Blutkuchens auf eine große Drigalski-Platte direkt, von dem anderen Teil erst nach 16–24-stündiger Bebrütung in Galle etwas auf eine Drigalski-Platte ausgesät wird.

Abgesehen davon, daß manchmal die Unterscheidung der Farbe der Kolonien auf der Drigalski-Platte durch die blaurote Farbe des Nährbodens beeinträchtigt und erschwert wird, leistet die Drigalski-Platte, wie allgemein anerkannt, ganz Vorzügliches. Nur in der Kompliziertheit der Herstellung und vor allem in dem hohen Preise des dazu verwendeten Materials liegt ein Nachteil, dessen Beseitigung wohl erwünscht ist. Wie auf dem oben beschriebenen Bitter-Agar, so werden auch auf dem neuen Agar die Säurebildner durch Farbreaktion mittelst Chinablau kenntlich gemacht¹⁾. Die Herstellung dieses neuen, einfachen Chinablauagars, wie Bitter ihn nennt, geschieht ähnlich wie die des Bitter-Agars, nur daß die Malachitgrünlösung ganz wegfällt und von der wässerigen, gesättigten Chinablaulösung anstatt 9 auf 100 nur 5 Tropfen auf 100 zugegeben werden. Beim Erkalten wird der Nährboden fast farblos. Typhus-, Paratyphusbakterien und Fleischvergifter wachsen nach 16–24-stündiger Bebrütung durchsichtig farblos und sind von den anderen, meist undurchsichtig wachsenden farblosen Kolonien bei einiger Übung leicht zu unterscheiden. Coli-Bakterien geben eine intensive, zu den farblosen Kolonien prachtvoll kontrastierende Blaufärbung, während Kokken teils blau, teils farblos, aber ebenfalls undurchsichtig wachsen.

Bei 250 typhusverdächtigen Proben habe ich gleichzeitig auf Chinablauagar und Drigalski-Agar ausgesät und auf beiden Nährböden dieselben Resultate erzielt: Auf Chinablauagar wie auf Drigalski-Agar waren von je 100 Blut-Galleaussaaten 22, von je 90 Urinaussaaten 17 positiv, und von 60 Fällen, in denen von Bitter-Agar auf Chinablauagar und Drigalski II übertragen wurde, je 18 positiv.

Daraus ergibt sich, daß der einfache Chinablauagar als Ersatz für Drigalski sehr gut zu gebrauchen ist, besonders für Blut-Galleaussaaten bei der Typhusblutkultur. Für direkte Urinaussaaten ist die neben der Bitter-Platte verwendete Drigalski-Platte allerdings vorzuziehen, weil diese die im Urin wenn auch meist spärlich vorhandenen Konkurrenz-bakterien einigermaßen im Wachstum hemmt, was die einfache Chinablauplatte nicht tut. Ebenfalls empfiehlt sich bei Verwendung von Bitter-Agar zu direkten Stuhlaussaaten der Gebrauch einer Drigalski-Platte zum Übertragen von den verdächtigen Kolonien aus den schon oben angeführten Gründen.

Zusammenfassung.

1) Der Bittersche Chinablau-Malachitgrünagar hat sich auch mir in seiner Anwendung sehr bewährt. Als Ersatz für den sehr leistungsfähigen Loefflerschen Nutrose-Galle-Malachitgrünagar beschleunigt und erleichtert er die Typhusdiagnose wesentlich, weil man schon nach 16–24 Stunden die verdächtigen Kolonien mit größerer Sicherheit und Gewißheit erkennen kann.

2) Der einfache Chinablauagar von Bitter ist als Ersatz für den Drigalski-Conradischen Lackmus-Milchzucker-Agar besonders zu empfehlen, da er Gleiches leistet, dabei aber wesentlich billiger und einfacher herzustellen ist.

¹⁾ Die erste, allerdings nicht veröffentlichte Vorschrift zur Herstellung eines ähnlichen Chinablaunährbodens stammt, wie Bitter mir mitteilte, von Dr. Delta-Alexandrien.

Nachdruck verboten.

Ueber Conradis elektive Ausschüttelung der Diphtheriebacillen mit Kohlenwasserstoffen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. B. Fischer).]

Von Medizinalpraktikant **Georg Rhodovi**.

In ihrer Erwiderung auf die Veröffentlichung von Jörgensen „Ueber den Wert verschiedener Homogenisierungs- und Sedimentierungsmethoden behufs des Nachweises von Tuberkelbacillen im Sputum“ haben Lange und Nitsche mitgeteilt, daß sie „eine Reihe von anderen Bakterien daraufhin geprüft haben, ob sie eine besondere Adhäsion zum Kohlenwasserstoff haben“. Sie fanden, daß „sich analog wie die Tuberkel- und Pseudotuberkelbacillen die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen, ferner der Meningococcus, Gonococcus und Catarrhalis und schließlich auch der Milzbrandbacillus“ so verhalten.

Am 20. Mai 1913 veröffentlichte Conradi in der München. med. Wochenschr. eine Mitteilung „Ueber ein neues Prinzip der elektiven Züchtung und seiner Anwendung bei Diphtherie“; das der von Lange und Nitsche zuerst gemachten Beobachtung zugrunde liegende Prinzip überträgt er hier in die Praxis der Diphtherieuntersuchung.

Genau wie die angeführten beiden Autoren bei ihrem Grundversuch zum Nachweis „einer gewissermaßen spezifischen Adhäsion“ der Tuberkelbacillen an den Kohlenwasserstoffen stellt sich nämlich Conradi eine Mischauflösung her von je einer Oese einer Agarkultur von Staphylokokken und Heubacillen und einer Tellurserumplattenkultur von Diphtheriebacillen in einem Reagensglas, das 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthält. Anstatt mit Ligroin — wie bei Lange und Nitsche — wird bei Conradi diese Auflösung mit 2 ccm Petroläther geschüttelt. Hat dieser Kohlenwasserstoff nach ungefähr 5 Minuten sich abgesetzt, so wird er mit Hilfe eines „Oelstabes“ aufgenommen, der auf folgende Weise hergestellt und gebraucht wird.

„Dünne Holzstäbchen werden am unteren Ende mit entfetteter Watte kleinfingerdick etwa 3 cm hoch in Form einer Halbkugel umwickelt. Um die Watte wird eine kleine runde Scheibe Filtrierpapier gelegt. Watte und Filtrierpapier werden noch durch dünnen Draht am Stab befestigt. Die fertigen Stäbe hält man sterilisiert vorrätig. Vor jedesmaligem Gebrauch wird das untere Ende des Oelstabes in sterilisiertes Olivenöl eingetaucht. Ist das überschüssige Öl abgelaufen, so wird der Oelstab, wie bereits erwähnt, in die Petrolätherschicht des Röhrchens hinabgelassen. Als dann wird der Petroläther von der saugfähigen Watte vollständig aufgesogen, während außen am geölten und daher bakterien-dichten Filtrierpapier die Keime der Petrolätherschicht adhäreren. Hingegen gleiten Wassertropfen, sowie die im wässerigen Medium befindlichen Bakterien vom Oelpapier restlos ab. Selbst bei einem unvorsichtigen Eindringen des Oelstabes in die Wasserschicht bleiben demnach die hier verteilten Keime nicht haften.“

Streicht man nun diesen Oelstab auf einer Tellurplatte aus, so entwickeln sich nach Conradi ausschließlich Diphtheriebacillen.

Dieses Verfahren hat Conradi weiterhin in entsprechender Weise bei „infizierten Tupfern“ — gemeint sind wohl Rachenabstriche von

Patienten — angewandt. Sein Ergebnis lautet: „Entweder wachsen Diphtheriebacillen, die Diagnose ist positiv, oder aber die Tellurplatte bleibt nahezu steril.“

Die Zuverlässigkeit der Diphtheriediagnose ist letzthin gegenüber der Kultur auf Loeffler-Serum durch Anwendung der Conradi-Trochschen Tellurplatte vielleicht ein wenig gesteigert worden. Es kann von einer „Verdoppelung“ der positiven Befunde bei Verwendung der Tellurplatte jedoch nicht die Rede sein, wie Wagner, Klunker sowie Schürmann und Hajós ziemlich übereinstimmend festgestellt haben. Namentlich sind die Begleitbakterien noch immer nicht leicht von den Diphtheriekolonien zu trennen und diese makroskopisch als solche oft schwer, bisweilen gar nicht festzustellen, wovon ich mich oft persönlich überzeugen konnte. Um so wertvoller wäre für die Diphtheriediagnose dieses neue Verfahren, falls es nur annähernd hält, was sich Conradi davon verspricht.

Herr Geheimrat Fischer beauftragte mich, dieses Verfahren einer Nachprüfung zu unterziehen.

I. Ausgangsversuche mit Reinkulturen.

Nach dem Vorgange Conradis führte ich folgenden Versuch aus: In einem Reagensglase, das 10 ccm physiologische Kochsalzlösung enthielt, verrieb ich dicht oberhalb der Flüssigkeit sorgfältig eine Oese einer Reinkultur von Diphtheriebacillen einer Tellurplatte, so daß nach Durchschütteln der Kochsalzlösung die Keime gleichmäßig in ihr verteilt waren; dasselbe wiederholte ich mit Agarkulturen von Staphylokokken und Heubacillen. Diese Mischauflschwemmung wurde kräftig durchgeschüttelt. Zur Technik der weiter unten besprochenen Versuche mit Bakterienauflschwemmungen von Rachenabstrichen wäre es empfehlenswert, die Diphtherietupfer oberhalb der Watte wegen des erfolgreicheren Schüttelns mit einer Zange abzuknipfen (diese kleine Verbesserung der Technik wurde von mir bei den Versuchen mit Rachenabstrichen leider noch nicht angewandt). Auch ist ein besonders fester Verschuß des Röhrchens bei diesen Versuchen erforderlich, da beim Nachweis von Diphtheriebacillen von Rachenabstrichen eine 37° warme Kochsalzlösung Verwendung findet und der Siedepunkt der Kohlenwasserstoffe niedrig liegt. Nach Durchschütteln der künstlich hergestellten Mischauflschwemmung, die vorher mit 2 ccm Petroläther versetzt wird, sieht man in der Tat am Boden der Petrolätherschicht eine Anhäufung von Schüppchen und Flöckchen der schwarzen Diphtheriekultur der Tellurplatte, „während Staphylokokken und Heubacillen lediglich im Wasser verteilt sind“. Ob unter den schwarzen Partikelchen nicht auch farblose Massen von diesen Bakterien sich aufhalten, lasse ich vorläufig dahingestellt. Zum Aufnehmen des Petroläthers wurde der Oelstab nach Conradis Angaben angefertigt, nur wurden anstatt der angegebenen Holzstäbchen solche aus Draht benutzt und die Watteschicht so groß genommen, daß sie eben in die hier gebräuchlichen Diphtherietupfergläser hineinpaßte.

Da nach Ansicht Conradis Pentan (C_5H_{12}) noch besser zum Ausschütteln sich eignet als Petroläther (Pentan + Hexan), wurden mit beiden Kohlenwasserstoffen Versuche ausgeführt. Nachdem nun der hinabgelassene Oelstab den Petroläther oder das Pentan aufgesogen hatte, wurde er unter beständigem Drehen auf den Nährboden ausgestrichen. Nach Conradi entwickeln sich jetzt ausschließlich Diphtheriebacillen. Das

Ergebnis meiner Versuche zeigen die nachfolgenden Uebersichten, in denen die Anzahl der Kreuze das Mengenverhältnis andeutet.

Versuchs- zahl	Kohlenwasserstoff	Diphtheriebacillen	Staphylokokken	Heubacillen
1	Petroläther	+	+++	+
2	"	0	0	+++
3	"	+	+	+++
4	"	+	+	+
5	Pentan	+	+	0
6	"	+	++	0
7	"	+	+	±

Ich fand also in keinem Falle ausschließlich Diphtheriebacillen, vielmehr fast regelmäßig die Begleitbakterien in der Mehrzahl. Diesen Mißerfolg glaubte ich auf mangelhafte Technik zurückführen zu müssen. Die in Kiel üblichen Tupferröhrchen haben nämlich höchstens 1,5 cm lichten Durchmesser, so daß die in sie hineinpasenden Oelstäbe eine verhältnismäßig kleine Grundfläche hatten, infolgedessen den Kohlenwasserstoff auch nicht immer prompt aufsogen. Beim Versuch, die Grenzschicht des Kohlenwasserstoffes noch ganz aufzunehmen, mochte die Kochsalzlösung mehr oder weniger berührt sein, trotzdem nach Conradis Ansicht auch dann wegen der Oelschicht die Wasserkeime nicht haften sollen. Ob diese Ansicht ganz zu Recht besteht, soll später erörtert werden. Auf jeden Fall wurden andere Reagensgläser verwandt und neue Oelstäbe angefertigt, die „kleinfingerdick“ mit entfetteter Watte versehen waren und auch sofort vollständig den Kohlenwasserstoff aufsogen.

Das Ergebnis der nochmals wiederholten Versuche zeigt folgende Uebersicht:

Versuchs- zahl	I.			
	Kohlenwasserstoff	Diphtheriebacillen	Staphylokokken	Heubacillen
1	Petroläther	+	—	+
2	"	±	—	—
3	"	+	++	—
4	"	—	—	—
5	"	++	++	±
6	"	++	++	—
7	"	++	++	—
8	Pentan	+++	0	0
9	"	+	+	+
10	"	—	+	+
11	"	++	++	—
12	"	++	+	—

Bei Wertung dieser Ergebnisse habe ich die Heubacillen ausschalten zu können geglaubt. Es wäre immerhin möglich, daß ein Stamm Bakterien sich dem Kohlenwasserstoff gegenüber anders verhält als ein anderer; zu vorliegenden Versuchen wurde immer derselbe benutzt, während verschiedene Stämme Staphylokokken und Diphtheriebacillen zum Gebrauch bei den Versuchen gezüchtet wurden. Heubacillen finden sich ja auch selten in Rachenabstrichen.

Aus der Zusammenstellung ergibt sich, daß bei 2 Versuchen keine Diphtheriebacillen gefunden wurden (ca. 16 Proz.), dagegen 4mal keine Staphylokokken (ca. 33 Proz.). Bei 2 Versuchen ergaben sich Diphtheriereinkulturen (ca. 16 Proz.), 7mal ungefähr gleiche Mengen Diphtherie-

und Staphylokokkenkolonien. Gleich gute Ergebnisse wie Conradi, nämlich ausschließlich Diphtheriebacillen, konnte ich also nicht erhalten.

II. Versuche mit Rachenabstrichen.

Ließen namentlich die Versager, bei denen überhaupt keine Diphtheriebakterien gefunden wurden, Bedenken gegen das zugrunde liegende Prinzip aufkommen, so war immerhin bei diesem Verfahren eine Einschränkung der Staphylokokken auffällig, und dieser Umstand veranlaßte mich zu weiteren Versuchen. Aus der hiesigen Medizinischen Klinik und zum Teil aus dem Prinz Heinrich-Kinderhospital wurden durch die Liebenswürdigkeit der Herren Dr. Willich und Dr. Piske die diphtherieverdächtigen Rachenabstriche doppelt geschickt, so daß einer nach der alten Methode auf der Loeffler-Platte ausgestrichen wurde, der andere nach den Angaben Conradis verwandt werden konnte. Die Art und das Mengenverhältnis wurde in beiden Präparaten genau festgestellt und aufgezeichnet. Auch wurde bei einer auffälligen Verschiedenheit der mikroskopischen Bilder ein neues Präparat angefertigt. Hier habe ich mich ebenfalls auf den Vergleich von Diphtheriebakterien und Staphylokokken beschränkt. Bei den Versuchen wurde zum Ausschütteln sowohl Petroläther wie Pentan und zur Aussaat sowohl die Loeffler- wie die Tellurplatte benutzt. Es ergab sich folgendes:

58 Rachenabstriche wurden untersucht. Es wurden nach Loeffler aus 39 Diphtheriebakterien gezüchtet, bei dem Conradischen Verfahren aber nur bei 32 diese nachgewiesen, mithin waren bei diesem neuen Ausschüttelungsverfahren doch 7 Versager zu verzeichnen (ca. 12 Proz.).

Staphylokokken fanden sich in den 58 Rachenabstrichen nach Loeffler 53mal, nach Conradi allerdings nur 33mal; es wuchsen demnach bei Verwendung des Ausschüttelungsverfahrens bei 34 Proz. keine Staphylokokken, während auch in diesen Fällen die alte Methode mehr oder weniger Staphylokokken aufzuweisen hatte. Das genauere Verhalten der Staphylokokken zeigt nachstehende Uebersicht. Es fanden sich bei dem Conradischen Verfahren im Vergleich zur alten Methode:

Kohlenwasserstoff	Nährboden	Versuchszahl	II. Staphylokokken				
			keine	weniger	gleichviel	mehr	bei beiden Methoden keine
Petroläther	Loeffler-Platte	17	6	5	4	2	0
	Tellurplatte	19	5	6	4	3	1
Pentan	Loeffler-Platte	19	7	4	4	0	4
	Tellurplatte	3	2	1	0	0	0
Summa		58	20	16	12	5	5
ca. %			34 %	27 %	20 %	9 %	9 %
keine oder weniger Staphylokokken			61 %				

Vergleicht man diese Ergebnisse der Rachenabstriche (II) mit den der künstlich hergestellten Bakteriengemische (I), so fanden sich mit dem neuen Verfahren im Vergleich mit der alten Methode:

Tabellen-No.	keine Diphtheriebacillen	keine Staphylokokken	Diphtheriereinkultur
I, 12	16 Proz.	33 Proz.	16 Proz.
II, 58	12 "	34 "	9 "

Die Ergebnisse der Versuche mit künstlichen Bakterienmischungen (I) und mit Rachenabstrichen (II) zeigen eine gute Uebereinstimmung in dem Sinne, daß auch bei diesen praktischen Versuchen Conradis Ergebnis, entweder Diphtheriebakterien oder Keimfreiheit der Platte, nicht erreicht wurde. Immerhin fanden sich bei 61 Proz. der praktisch angewandten Versuche (Rachenabstrichen) beim Vergleich mit der alten Methode keine (34 Proz.) oder weniger (27 Proz.) Staphylokokken. Die große Zahl der Versager (14 Proz.), denen nur ein Fall gegenübersteht, bei dem unsere gebräuchliche Methode im Stich ließ, verbietet bei dieser Technik die Einführung in die praktische Diphtherieuntersuchung.

III. Zur Technik.

In der Annahme, daß das Prinzip dieser elektiven Züchtung vielleicht richtig ist, habe ich vermeintlichen Mängeln der Technik nachzugehen versucht. Zunächst erregte Conradis Ansicht, daß auch beim unvorsichtigen Eintauchen in die Kochsalzlösung der Oelstab die in ihr befindlichen Bakterien nicht aufnehmen sollte, Bedenken. Insofern es mir angesichts der leichten Löslichkeit des Oeles in Kohlenwasserstoffen zweifelhaft erschien, ob die Kochsalzlösung vom Oelstab „restlos“ abgleitet, tauchte ich ihn eine Sekunde nach Aufsaugen von 2 ccm reinem Petroläther in eine künstliche Staphylokokkenaufschwemmung und strich ihn auf eine Tellurplatte aus, und es zeigte sich, daß ein Rasen von Staphylokokken wuchs. Die Ansicht Conradis vom restlosen Abgleiten kann ich demnach nicht teilen. Die Kohlenwasserstoffarten üben auf die Diphtherieerreger innerhalb der in Frage kommenden Zeit (sie vertrugen nachweislich sogar eine $\frac{3}{4}$ -stündige Einwirkung) keinen das Wachstum schädigenden Einfluß aus. Da auch die Nährböden bei der schnellen Verflüchtigung der Kohlenwasserstoffe nach Ueberführung der 2 ccm auf sie, wie angestellte Versuche ergaben, nicht litten, so würde ein Abpipettieren des ganzen oder noch besser der unteren Hälfte des Kohlenwasserstoffes (cf. Teil 4) und Uebertragen auf den Nährboden sich vielleicht empfehlen.

Aber angenommen, der Oelstab berührte bei vorsichtigem Handhaben die Kochsalzlösung überhaupt nicht, so müßten ja, vorausgesetzt, daß in der Grenzschicht sich wirklich nur Diphtheriebakterien aufhalten, lediglich auch solche wachsen. Wie Conradi, so behaupten ja auch Lange und Nitsche, daß nach Ausschütteln einer Staphylokokkenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit Kohlenwasserstoff in diesem Staphylokokken nicht vorhanden seien. Lange und Nitsche entnehmen 10 Oesen aus dem Ligroin zum mikroskopischen Nachweis, daß keine Staphylokokken im überstehenden Ligroin sich aufhalten; bei meinen Versuchen genügte oft eine Oese, um Staphylokokken nachzuweisen. Unter 10 Versuchen habe ich nur 2mal im überstehenden Ligroin oder Petroläther mikroskopisch Staphylokokken nicht gefunden. Daß ich bei meinen Versuchen trotz möglichster Bemühungen nicht gleich gute Ergebnisse wie Conradi erhalten konnte, beruht demnach darauf, daß der Aufenthalt der Begleitbakterien im Kohlenwasserstoff doch sehr vom Zufall abhängig ist, wie ja auch Conradi zugibt, indem er sagt, „oder aber die Tellurplatte bleibt nahezu steril“.

IV. Zur Verteilung der Bakterien im Kohlenwasserstoff und in der Kochsalzlösung.

Meine Tabellen zeigen, daß das Conradische Verfahren wohl eine Einschränkung der Staphylokokken ergibt, aber es fand sich, daß auch

von den Diphtheriebakterien nur ein Teil beim Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen in diesen übergeht. Abgesehen von den oben angeführten 14 Proz. Versagern stellte es sich nämlich noch heraus, daß beim Vergleich der 58 untersuchten Platten der alten mit denen der neuen Methode diese letztere in 17 Fällen (30 Proz.) weniger Diphtheriebakterien aufwiesen als die der direkten Kultur auf Loeffler-Serum. Das genauere Verhalten der Diphtheriebakterien zeigt nachstehende Tabelle.

Es fanden sich Diphtheriebakterien mit dem Conradischen Verfahren im Vergleich mit der alten Methode:

Kohlenwasserstoff	Nährboden	Versuchszahl	IV. Diphtheriebakterien					
			keine	weniger	gleichviel	mehr	bei beiden Methoden keine	positiv mehr
Petroläther	Loeffler	17	4	6	3	2	2	0
	Tellur	19	1	6	2	1	9	0
Pentan	Loeffler	19	1	4	5	0	8	1
	Tellur	3	2	1	0	0	0	0
Summa		58	8	17	10	3	19	1
ca. %			14 %	30 %	17 %	5 %	33 %	2 %

Das Mengenverhältnis der Diphtheriebakterien zu den Staphylokokken im Vergleich mit dem alten Verfahren läßt weiterhin folgende Zusammenstellung erkennen:

Tabelle No.	keine	weniger	gleichviel	mehr	bei beiden Methoden keine
IV. Diphtheriebakt.	12 Proz.	30 Proz.	17 Proz.	5 Proz.	33 Proz.
II. Staphylokokken	34 „	27 „	20 „	9 „	9 „

Diese Uebersicht zeigt, daß bei Anwendung des Conradischen Verfahrens nicht nur weniger Staphylokokken, sondern auch weniger Diphtheriebakterien im Vergleich zur alten Methode wuchsen, daß also die gesamte Bakterienmenge verringert, die Menge der Staphylokokken allerdings besonders eingeschränkt war.

Gelegentlich seiner Versuche zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum gelangt Jörgensen zu einem entsprechenden Ergebnis. Dieser Autor fand, daß „die Ligroin- und Petroleumätherbodensätze höchstens 50 Proz. der ganzen Bacillenmenge enthalten, des öfteren eine bedeutend geringere Menge“.

Noch weit schlechtere Resultate mit der Ligroinausschüttelung der Tuberkelbacillen erhält Rau. Gegenüber dem Einwand von Lange und Nitsche, welche sich diese Ergebnisse Raus nur durch Annahme „direkter Ausführungsfehler“ erklären zu können glauben, weil er bei einigen besonders bacillenreichen Sputen keine Tuberkelbacillen mit ihrer Methode fand, will ich darauf hinweisen, daß auch die Diphtheriebakterienausschüttelung bei mir in einem Falle total versagte, in dem sich nach der alten Methode enorm viel Diphtherieerreger fanden.

Bezüglich der Verteilung der Tuberkelbacillen im Kohlenwasserstoff kommt Jörgensen zu dem Schluß, „... daß sich die Vorstellung einer besonders bacillenreichen Grenzschicht nicht aufrecht erhalten läßt“. Ich kann mich jedenfalls betreffs der Diphtheriebakterien dieser Ansicht nicht anschließen, vielmehr findet an der Grenzschicht eine Anreicherung dieser

Bakterien wohl sicher statt, wie folgende Beobachtungen zeigten. Einmal sieht man, wie oben erwähnt, am Boden des Kohlenwasserstoffes viele schwarze Schüppchen und Flöckchen der Diphtheriekolonien der Tellurplatte, dann bestätigten aber auch folgende zahlreich ausgeführten Versuche diese Annahme. Eine Oese einer Reinkultur der betreffenden Bakterien, in Kochsalzlösung sorgfältig aufgeschwemmt, wurde mit Petroläther oder Pentan oder Ligroin kräftig durchgeschüttelt. Nachdem sich der Kohlenwasserstoff nach ungefähr 5—10 Minuten abgesetzt hatte, wurde mit einer Pravazschen Spritze je 0,2 ccm aus der oberen Hälfte des Kohlenwasserstoffes, der Grenzschicht und der Mitte der Kochsalzlösung aufgesogen und ausgesät. In folgender Uebersicht ist das Mengenverhältnis der Bakterien in den betreffenden Schichten, wie es sich von den Platten ablesen ließ, angedeutet.

	Diphtheriebakt.	Pseudodiphth. ¹⁾	Staphylokokken	Milzbrandbac. ¹⁾
obere Hälfte des Kohlenwasserstoffes	+	+	+	+++
Kohlenwasserstoff-grenzschicht	+++	+++	+	
Mitte NaCl	++	++	++++	+++

Diese Versuche mit künstlichen Ausschwemmungen bestätigen also nur das, was ich an Hand meiner Versuchstabellen mit Bakterienausschwemmungen von Rachenabstrichen schon oben feststellen konnte, daß nämlich durchaus nicht sämtliche Bakterien in den Kohlenwasserstoff übergehen, vorzüglich jedoch die Staphylokokken Neigung zeigen, in der Kochsalzlösung zurückzubleiben.

Die Begründung für das Aufsteigen der in Frage kommenden Bakterien sehen Lange und Nitsche sowohl wie Conradi in einer fettkörperhaltigen Membran dieser Bakterien, die ja den Tuberkelbacillen eigentümlich ist. Betreffs dieser will Jörgensen nur ein mechanisches Hinaufreißen anerkennen. Daß dieses teilweise in Betracht kommt, lehrt das häufige Antreffen der Staphylokokken im Kohlenwasserstoff, daß aber teilweise auch eine spezifische Adhäsion der betreffenden Bakterien, hervorgerufen durch den Fettkörpergehalt dieser, bei der Verteilung der Keime in den beiden Flüssigkeiten im Spiele ist, glaube ich annehmen zu müssen, zumal nach den Untersuchungen Hills auch die Diphtheriebakterien von einer Membran umgeben sind. Ob nun ein mechanisches Hochreißen oder eine spezifische Adhäsion vorliegt oder ob, was wahrscheinlich ist, beide zusammenwirken, eine Anreicherung der betreffenden Bakterien in der Grenzschicht findet wohl sicher statt.

Zusammenfassung.

1) Wenn Conradi sagt, „entweder wachsen Diphtheriebakterien, die Diagnose ist positiv, oder aber die Tellurplatte bleibt nahezu steril“, so stimmen damit meine Erfahrungen keineswegs überein.

2) Die Staphylokokken erfuhren wohl eine gewisse Einschränkung, sie erschienen aber noch in ca. 58 Proz. der Fälle in mehr oder minder großer Zahl auf den Platten.

3) Nach meinen Untersuchungen verdient das Conradische Ausschüttelungsverfahren vor dem allgemein üblichen Ausstreichen der

1) Nur ein Versuch ausgeführt.

Tupfer auf der Loeffler-Platte keineswegs den Vorzug, ja es bleibt sogar nicht unwesentlich hinter demselben zurück, bekam ich doch nach dem alten Verfahren in 67 Proz., nach dem Conradischen nur in 55 Proz. der untersuchten Fälle ein positives Ergebnis.

4) Die in größerer Zahl von mir ausgeführten Nachprüfungen lassen keinen Zweifel darüber, daß die Diphtheriebakterien bei der Ausschüttelung nach Conradi in großer Zahl in den Kohlenwasserstoff übertreten und sich besonders zahlreich in der Grenzschicht finden. Ich möchte daher annehmen, daß die weniger günstigen Resultate, zu denen ich gekommen bin, darauf zu beziehen waren, daß es mit Hilfe des Oelstabes nicht gelingt, alle von der Kohlenwasserstoffschicht aufgenommenen Diphtheriebakterien auf den Nährboden zu verpflanzen; ließe sich dieses durch irgendein Verfahren zuverlässig erreichen, so würde dadurch vermutlich die Conradische Methode wesentlich gewinnen.

Literatur.

- Conradi, C., München. med. Wochenschr. 1913. No. 20.
 Hill, H. W., Ann. Rep. Boston Board of Health. 1901. (Cit. n. Neisser u. Gins.)
 Jörgensen, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. p. 327.
 Klunker, München. med. Wochenschr. 1913. p. 1025.
 Lange u. Nitsche, Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 10. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67.
 Neisser u. Gins, Handb. d. pathog. Mikroorgan. (Kolle u. v. Wassermann) Bd. V. p. 942.)
 Rau, Hyg. Rundsch. Bd. 19. No. 23.
 Schürmann u. Hajós, Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 786.
 Wagner, München. med. Wochenschr. 1913. No. 9.

Nachdruck verboten.

Zur Färbungsanalytik und Biochemie einiger wichtiger Bakterienarten.

[Aus der medizinischen Klinik der Universität Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. de la Camp).]

Von **Hans Kronberger**, Freiburg i. Br.

Mit 1 Tafel.

Nach ihrer Färbbarkeit können wir die pathogenen Mikroben in zwei Hauptgruppen einweisen. Der ersten gehören die Bakterien an, die unmittelbar durch alle basischen und sauren Anilinfarbstoffe färbbar sind und deren Diagnose weiterer Hilfsmittel nicht bedarf. Die zweite Gruppe wird durch die Elektivfärbungen vertreten. Letztere lassen nach Maß und Modus ihrer Differenzierungsfähigkeit wiederum zwei größere Unterabteilungen abscheiden. Die Methoden der einen Abteilung finden hauptsächlich Anwendung bei morphologisch verschiedenen Bakterienarten mit analogen Lebensäußerungen und analogen Veränderungen im Wirtsorganismus (z. B. die Säurefest- und Farbechtmethoden für die Erreger der meisten infektiösen Granulome). Die Methoden der anderen Unterabteilung lassen uns morphologisch unter Umständen gleichartige Bakterien als wirkungsverschiedene unterscheiden. Hier kommt die Haupt-

bedeutung der Gram-Färbung zu. — Im folgenden möchte ich kurz einige Verfahren mitteilen, die sich zur Ergänzung der Gramschen Methode eignen, zur Erklärung des Färbepinzips dieser Färbung beitragen dürften und die außerdem noch eine individualisierende Differenzierung innerhalb der einzelnen verschiedenen Bakterienarten ermöglichen.

Die Brauchbarkeit der Pikrinsäure als Fixierungs- und Differenzierungsmittel in der histologischen Technik, als differenzierender und gleichzeitig imprägnierender Farbstoff in der Hämatologie, bestimmte mich, ihre Wirkung vermitteltst mannigfacher Färbeversuche an verschiedenen Bakterienarten eingehender zu studieren. Bisher hat sich die Pikrinsäure in der praktischen Bakteriologie hauptsächlich als Farbfixierungsmittel in der C. Spenglerschen Pikrinfärbung für die Tuberkuloseerreger hervorragend bewährt. Ferner hat schon früher Claudius eine sehr brauchbare Modifikation der Gram-Färbung angegeben. Claudius gründet mit Methylviolett und verwendet statt der Jodjodkaliumlösung eine ihr gleichwertige, konzentrierte wässrige Pikrinsäure. Durch diesen Ersatz der Lugolschen Lösung lassen sich Farbniederschläge leichter vermeiden als bei Anwendung der originalen Gram-Methode. Außerdem ist die Modifikation von Claudius insofern empfindlicher, als sie — wenn auch nicht regelmäßig — einige Bakterienarten (Rauschbrandbacillen und Bacillen des malignen Oedems), die der gebräuchlichen Gram-Färbung gegenüber indifferent sind, als grampositiv charakterisiert.

Mir lieferte eine Modifikation derjenigen Methode die befriedigendsten Resultate, die Reddingius, Pappenheim und ich zur Darstellung der zentralen Chromatinkörper (nukleoiden Innenkörper) in den Säugererythrocyten verwenden. Diese Methode, die ich wie die anderen Verfahren an Reinkulturmateriel von *Staphylococcus pyogenes aureus*, von verschiedenen Streptokokkenarten und von *Bacterium coli commune* ausgeprobt habe, will ich zuerst mitteilen. Um die anzugebenden Methoden nicht als überflüssige Modifikationen erscheinen zu lassen, möchte ich hier schon betonen, daß die Wahl der Anilinfarben für das Ausfallen der Gram-Färbung und ihre Abänderungen durchaus nicht gleichgültig ist.

Methode I.

1) Flammenfixation des luftgetrockneten Präparates, welches mit dem möglichst dünnen und gleichmäßigen Ausstrich des Kulturmateriales beschickt wurde.

2) Aufgießen konzentrierter wässriger Methylenblaulösung. Färbedauer der kalten Lösung ca. $\frac{1}{2}$ Minute. Abspülen mit Brunnenwasser.

3) Applikation einiger Tropfen des gebräuchlichen Esbach-Reagens, das etwa $\frac{1}{4}$ Minute einwirken soll. Abspülen mit Brunnenwasser.

4) Kontrastierung mit konzentrierter alkoholischer oder wässriger Eosinlösung. Wirkung ungefähr $\frac{1}{4}$ Minute. Abspülen mit Wasser. Trocknen über der Flamme, Einschließen in Kanadabalsam oder sofortige Untersuchung unter Oelimmersion.

Methode II.

Färbeverfahren II ist der eben mitgeteilten Methylenblau-Pikrinmethode vollständig analog. Nur kommt bei ihm statt der Methylenblaulösung Gentianaviolett wässriger Konzentration zur Anwendung. Die Einwirkungsdauer der verschiedenen Farblösungen und der Pikrinsäure ist die gleiche wie bei Methode I.

Zunächst stellen wir den Färbungseffekt beider Methoden an Reinkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* fest. Zu diesem Zwecke entnimmt man einer Kolonie einer 1 Tag alten Glycerin-Agarkultur eine Oese Material und verteilt es so gleichmäßig als möglich auf 3 Objektträger. Von diesen 3 Präparaten wird nach der Fixierung das eine nach der Methylenblau-Pikrinmethode, das zweite nach der Genvianaviolett-Pikrinfärbung und das letzte zur Kontrolle nach dem üblichen Gram-Verfahren gefärbt. — Die nach Gram dargestellten Staphylokokken des Testpräparates zeigen sich in den typischen traubenförmigen Gruppierungen und sind alle ausnahmslos homogen dunkelblauviolett gefärbt (Farbentafel, Fig. 1). Nur in Kulturen, die erst wenige Stunden alt waren, fand ich Kokken, die sich der Gram-Färbung gegenüber als völlig indifferent erwiesen, eine Beobachtung, die mich zu vorliegenden Studien anregte. — Die nach Methode I und II gefärbten Präparate bieten meist ungewöhnliche Bilder dar. Sie lassen nämlich unter den Individuen der Kolonie, die sich nach Gram sämtlich einheitlich färben, eine Verschiedenheit erkennen, die in einer sehr auffälligen verschiedenen Färbung der einzelnen Kokken zum Ausdruck kommt. Methode I stellt mehr oder weniger intensiv himmelblaue und leuchtend rote, Methode II dunkelviolette und glänzend rote Individuen dar (Farbentafel, Fig. 2 u. 5). In beiden Präparaten sind die rot tingierten Exemplare den anders gefärbten gegenüber in der Minderzahl. Zwischen Verschiedenheit der Färbung und der Größe der einzelnen Kokken besteht nach meinen bisherigen Beobachtungen keine gesetzmäßige Beziehung: regellos erscheinen die zierlichen, verschieden großen Kügelchen bald rot, bald blau bzw. blauviolett gefärbt. Ungefärbte Exemplare finden wir in keinem Gesichtsfeld. Daß die sich rot färbenden Kokken durch die Pikrinsäure ihrer Methylenblaufärbung verlustig gehen und dann die Eosinlösung annehmen, davon kann man sich durch Unterbrechung der Färbeprozedur überzeugen. Spült man die Präparate nach der Einwirkung der Esbach-Lösung mit Wasser ab, trocknet und untersucht sie unter Immersion, so findet man außer den grünblau gefärbten Kokken, die in der Mehrzahl vorhanden sind, vollständig entfärbte andere Exemplare. Es ist klar, daß es sich bei dieser Entfärbung und Eosinnachfärbung nicht um eine einfache Farbstoffextraktion und -Substitution durch die Eosinlösung handeln kann. Daß ebensowenig eine bloße Bevorzugung des sauren Eosins durch die rot darzustellenden und eine bloße Bevorzugung des basischen Methylenblaus durch die blau färbbaren Individuen in Frage kommt, geht aus dem Ausfallen der Unna-Pappenheim-Färbung hervor. Die scharfe Trennung nach den beiden Farben Rot und Blau, wie wir sie durch die Methode I erhalten, vermissen wir bei der Färbung gleichartiger Kontrollausstriche nach Unna-Pappenheim; verschiedene Abstufungen des Rot, in manchen Kulturen auch des Rotviolett, beherrschen hier das Bild. — Die Blau- bzw. Violettfärbung der einen Individuen ist auf eine besondere chemische Affinität ihres Protoplasmas zu den angewendeten basischen Anilinfarbstoffen sowie auf eine hohe „Pikrinfestigkeit“ zurückzuführen. Die Rotfärbung der anderen Kokken kommt dadurch zustande, daß ihr Protoplasma bei Einwirkung der Pikrinsäure die locker gebundenen basischen Farbstoffe abgibt und sich dafür intensiv mit dem sauren Eosin färbt, zu dem es größere Avidität besitzt. Ein einfaches Färbexperiment bestätigt die Richtigkeit dieser Auffassung. Kontrastieren wir ein Staphylokokken-Ausstrichpräparat sogleich nach der Methylenblaufärbung mit alkoholischer oder wässriger Eosinlösung, spülen es mit Wasser ab, trocknen und besehen es unter Immersion, so

finden wir die meisten Kokken zart rosa gefärbt, eine geringere Anzahl leuchtend rot tingiert; nirgends können völlig entfärbte Individuen beobachtet werden. Dieser Versuch für sich allein demonstriert, daß alle Staphylokokken acido(eosino-)phil sind, die Mehrzahl allerdings in sehr geringem Grade. Da bei Anwendung unserer beiden Methoden von seiten der meisten Staphylokokken Methylenblau resp. Gentianaviolett nicht abgegeben wird, so muß der Pikrinsäure für diese Individuen die Bedeutung eines Fixierungsmittels für die basischen Anilinfarblösungen zugeschrieben werden. Die Pikrinsäure spielt also hier die nämliche Rolle wie bei der C. Spenglerschen Pikrinmethode und den Verfahren, die der Darstellung der Chromatinsubstanzen in den Säugetiererythrocyten dienen.

So ähnlich Methode I und II einander sind, so merklich verschieden sind die damit zu erzielenden Resultate bezüglich des quantitativen Verhältnisses der verschiedenartig färbbaren Bakterienindividuen zueinander. Die Methylenblau-Pikrinmethode bringt unter allen Umständen mehr rote Kokken zur Anschauung als das Gentianaviolett-Pikrinverfahren. Außerdem besteht offenbar eine geregelte Beziehung zwischen Alter und Färbbarkeit der Staphylokokken. Beide Färbemethoden demonstrieren gleich anschaulich, daß mit zunehmendem Alter der Staphylokokkenkolonien sich die Zahl ihrer eosinophilen Individuen langsam, aber stetig, erhöht; gleichzeitig ist eine Abnahme der Färbungsintensität der violetten und besonders der blauen Kokken zu bemerken. In der Regel bleiben die blau und violett darzustellenden Kokken in der Uebersahl, auch in den ältesten Kulturen; seltener finden wir die verschieden gefärbten Individuen in gleichen oder nahezu gleichen Mengen. An dieser Stelle möchte ich auf Grimmes Verweisen, der zuerst die verschiedene Resistenz der Morphoden und Wachstumsstadien von Bakterien gegen die entfärbende Wirkung des Alkohols zeigte. So blieben, um ein Beispiel anzuführen, nach Grimmes Untersuchungen auskeimende Bacillen (*Bacillus cohaerens* und *tumescens*) nach ungefähr einstündiger Alkoholeinwirkung noch intensiv gefärbt, während bei 8—10 Tage alten Kulturen von *Bac. cohaerens* nach der Alkoholbehandlung nur noch eine Cytoplasmafärbung möglich war. Uebrigens hat schon vor Grimme Czaplewski auf die leichtere Entfärbbarkeit älterer Kulturen hingewiesen. — Nächst den eben zitierten Grimmeschen Untersuchungen verdienen die Studien Ph. Eisenbergs besonderes Interesse. Durch Vorbehandlung der Präparate mit methylalkoholischer Aurantialösung und nachfolgender Färbung mit Methylviolett B, ebenso bei umgekehrter Anwendung beider Farbstoffe, gelang es Eisenberg, an verschiedenen Bakterien eine, zwei verschiedenen Entwicklungsstadien entsprechende Ektoplasmafärbung zu erzielen. In jugendlichem Stadium färbt sich die Bakterienzelle dunkelviolett, in späterem Stadium erscheint das ungefärbte oder schwach gelblich tingierte Zentrum von einem intensiv violetten Ektoplasmasaum umgeben. Ein ähnliches Färberesultat konnte ich bisweilen an Staphylokokkenkulturen jeden Alters durch Vorbehandlung des Ausstrichs mit Aether-Alkohol und nachfolgende Methylenblau-Pikrinfärbung erzielen. Die meisten Kokken zeigten ein mehr oder weniger intensiv dunkelblaues oder graublaues Zentrum, das von einer rosa gefärbten Zone umsäumt war (Farbentafel, Fig. 4). — Die Analogie, wie sie zwischen der Wirkung der Eisenbergschen Methode und der Gentianaviolett-Pikrinfärbung besteht, ist wohl nur auf die Konstitutionsähnlichkeit zwischen Methyl- und Gentianaviolett sowie auf diejenige zwischen Pikrinsäure und Aurantialösung (Aminodipikrinsäure) zu beziehen.

Zu unseren farbanalytischen Studien an Bakterien der gramnegativen Gruppe eignet sich das *Bact. coli commune* am besten. Zu seiner Kultivierung schwemmt man eine Oese Faeces in einigen Kubikzentimetern destillierten Wassers auf und legt Strichkulturen auf Glycerin-Agar oder noch vorteilhafter auf Glycerin-Traubenzucker-Agar an, die in den auf 37° C eingestellten Thermostaten eingebracht werden. Schon nach 6 Stunden ist unter Umständen hinreichendes Untersuchungsmaterial zur Verfügung. Auch für diese Färbeversuche ist es sehr empfehlenswert, jedesmal drei Objektträgerpräparate von der gleichen Kolonie anzufertigen. Das erste Präparat wird nach Methode I, der zweite Ausstrich nach Methode II, der letzte zur Kontrolle wiederum nach dem gewöhnlichen Gram-Verfahren gefärbt. — Bei der mikroskopischen Untersuchung eines nach Gram gefärbten Präparates einer einen Tag alten *Coli*-Kultur finden wir, wie a priori zu erwarten stand, sämtliche Bacillen ungefärbt; lediglich die Konturen der Stäbchen sind schwach angedeutet. Betrachten wir im Gegensatz hierzu den Ausstrich, der von der nämlichen gleichalten Kolonie angefertigt und nach der ersten Methode gefärbt wurde, so erhalten wir überraschende Bilder. Die Methylenblau-Pikrinfärbung bringt nämlich die *Coli*-Bacillen nicht in einer gleichartigen Farbe zur Darstellung, sondern läßt in scheinbar unbestimmtem Mengenverhältnis hell- und purpurrote, hell- und dunkelblaue sowie blauviolette Individuen unterscheiden! (Farbentafel Fig. 7). Von Wichtigkeit ist, hervorzuheben, daß die Gentianaviolett-Pikrinfärbung auch bei den *Coli*-Bacillen ein anderes Resultat liefert als die Methylenblau-Pikrinmethode. Hier ist der Unterschied in der Wirkung beider Färbungen nur noch ein weit auffallenderer als der bei der Staphylokokkendarstellung angegebene. Bei Anwendung der Färbungsmethode II vermissen wir stets die Differenzierung nach verschiedenen Farben, mögen die einzelnen Individuen jungen oder älteren Kulturen entnommen sein. Alle Stäbchen präsentieren sich in roten Farbtönen und zwar ist die Mehrzahl mattrosa, der kleinere Rest leuchtend dunkelrot gefärbt! — Ebenso wie bei den Staphylokokken sind bei den *Coli*-Bacillen durch unsere beiden Methoden Beziehungen zwischen Färbbarkeit und Alter der Individuen nachzuweisen. Zu dieser Demonstration eignet sich die Methylenblau-Pikrinfärbung vorzüglich; mit ihr lassen sich aus ganz jungen Kolonien rote und blaue Stäbchen in verschiedenen Nuancen dieser Farben darstellen. In den meisten meiner Kulturen nahm dann sehr rasch die Zahl der blau darzustellenden Individuen ab; in manchen Kolonien waren bereits am 3. Tage nur mehr rot und rosa färbbare Stäbchen vorhanden. In Kulturen, die über 5 Tage alt waren, differenzierte die Methylenblau-Pikrinfärbung die *Coli*-Bacillen in keinem Falle mehr doppelfarbig. Beizt man jedoch ältere Ausstriche etwa 15 Minuten lang mit erwärmter 2,5-proz. Silbernitratlösung, so lassen sich auch in ihnen rote und blaue Individuen anschaulich machen. — Die Gentianaviolett-Pikrinmethode gibt uns in dem wechselnden Mengenverhältnis der in den verschiedenen Nuancen des rot dargestellten Stäbchen ein, allerdings recht unzuverlässiges, Kriterium für das Alter der untersuchten Kultur. In den Ausstrichpräparaten, die aus sehr jungen Kolonien gewonnen und nach der zweiten Methode gefärbt sind, ist die Mehrzahl der Bacillen rosa, ein kleinerer Anteil dunkelrot gefärbt. Allein bei der Färbung von Material aus nur wenig älteren Kolonien können wir den anfangs vorhandenen, durch nur zwei Nuancen des Rot bedingten Kontrast durch das Auftreten zahlreicherer Abstufungen dieser Farbe verwischt oder aufgehoben sehen. — Diese durch beide Methoden erreichbaren Resultate

lehren uns, daß sich das Protoplasma der Coli-Bacillen aus einer azidophilen und basophilen Komponente zusammensetzt, und daß die Leibes-substanz jüngerer Individuen eine größere Affinität zu basischen, diejenige älterer Exemplare eine ausgesprochene Avidität zu sauren Anilinfarben zeigt. Die Pikrinfestigkeit der jüngsten und jüngeren Stäbchen kann wie bei den Staphylokokken nur auf die Bedeutung der Pikrinsäure als Farbfixierungsmittel zurückgeführt werden. Denn behandeln wir einen Ausstrich, selbst von sehr jungen Coli-Bacillen, nach der Methylenblaufärbung sogleich mit alkoholischer Eosinlösung, so entfärbt letztere sofort alle etwa blau dargestellten Stäbchen und stellt sie sämtlich teils rot teils rosa dar.

Durch ihre Mannigfaltigkeit bemerkenswerte Resultate erhält man bei der Färbung von *Streptococcus pyogenes* nach der Methylenblau- und Gentianaviolett-Pikrinmethode. Um am einfachsten zur Vergleichung verschiedene Streptokokkenarten zu erhalten, verwendet man Mundsputum als Ausgangsmaterial für Pepton-Agaranreicherung. Gewöhnlich kommen morphologisch verschiedene Streptokokkenarten zur Entwicklung. Der Durchschnittsgröße ihrer Individuen nach möchte ich sie als kleinste, mittelgroße (Durchschnittsgröße eines *Staphylococcus pyogenes*) und größte Formen bezeichnen; schließlich finden sich noch Ketten mit verschiedenen großen Individuen. Nach 12-stündiger Anreicherung wurden in den mit Methylenblau-Pikrin gefärbten und mit Eosin kontrastierten Ausstrichen die Ketten der drei verschiedenen Größen in dunkelvioletter, dunkel- oder hellroter Farbe dargestellt. Die in weit geringerer Anzahl vorhanden gewesenen Ketten mit ungleich großen Individuen wiesen gewöhnlich derartige Doppelfärbung auf, daß die größeren Glieder der Ketten in dunkleren Farben (Dunkelblau-Dunkelviolet), die kleineren rot oder rosa gefärbt waren (Farbentafel Fig. 8!). Ähnliche Ergebnisse erhält man bei Anwendung der Gentianaviolett-Pikrinfärbung. — Bei der farbanalytischen Untersuchung der weiteren Entwicklungsstadien fand ich in den Ausstrichen im Vergleich zu den frühesten Stadien keine auffallenden qualitativen Veränderungen. Eine bestimmte Beziehung zwischen Alter und Färbbarkeit, wie wir sie bei Staphylokokken und Coli-Bacillen leicht feststellen konnten, läßt sich bei den Streptokokken ohne weiteres also nicht konstatieren. — Genauere Aufschlüsse über die Abhängigkeit der Färbbarkeit vom Alter, auch von der Virulenz der verschiedenen Streptokokken sind ohne eingehendste Kultivierungsversuche und Tierexperimente unmöglich zu erhalten. — Besonders farbenprächtige Bilder gewährt uns die Färbung von Material aus Mischkulturen (Staphylokokken und Coli-Bacillen z. B.) nach unseren beiden Methoden (Farbentafel Fig. 6).

Das Bestreben, die bewährteste Elektivfärbung so einfach und sicher als möglich zu gestalten, hat manche Modifikation des Gramschen Verfahrens entstehen lassen. So glaubte man bald den ursprünglichen Grundierungsfarbstoff, bald die Lugolsche Lösung durch zweckmäßigeren Ersatz substituieren zu müssen. Die Modifikation nach Claudius, deren Vorteile bereits angeführt sind, hat die Jodjodkaliumlösung vorteilhaft durch Pikrinsäure ersetzt. Für die Brauchbarkeit dieses Ersatzes spricht u. a. auch die Leistungsfähigkeit der spezifischen Färbemethoden für die Tuberkuloserreger, bei denen Jod resp. Pikrinsäure zur Anwendung kommt: der C. Spenglerschen Pikrinfärbung, der ihr vollkommen identischen Tarchettischen Methode sowie meiner Karbol-fuchsin-Jodmethode. — Die Versuche, die Gentianaviolettlösung durch andere Anilinfarbstoffe zu ersetzen, basieren wohl auf den farbanalytischen

Studien Unnas und Bergeys. Beide Autoren vertreten die Ansicht, daß dank ihrer Affinität zum Jod nur die Pararosanilinfarben, unter ihnen wiederum die violetten, für die Gram-Färbung geeignet seien. So sind denn in der Folge Modifikationen ausgearbeitet worden, die alle möglichen Farbstoffe der Rosanilingruppe zur Vorfärbung verwenden, bei den innigen chemischen Beziehungen zueinander und zum Gentianaviolett freilich ohne auffallenden Vorteil. Ich selbst möchte im Folgenden noch einige einfache Färbungskombinationen mitteilen, da ihre Ergebnisse für das Verständnis der Elektivfärbungen im allgemeinen, der Gramschen Methode im speziellen, nicht ohne Interesse sein dürften.

Die Möglichkeit, das Gentianaviolett durch ähnliche Anilinfarbstoffe, die Lugolsche Lösung durch Pikrinsäure brauchbarerweise zu ersetzen und gleichwohl das Färbeprinzip der Gram-Methode zu wahren, wies ohne weiteres auf zwei verschiedene Wege hin, zu neuen Kombinationen zu gelangen. Entweder kombiniert man die Original-Gram-Färbung mit der Pikrinsäuredifferenzierung und nachfolgender Eosinkontrastfärbung oder man färbt analog der Gramschen Methode, ersetzt aber die Anilinwasser-Gentianaviolett-Lösung durch die Lösung eines brauchbaren anderen Anilinfarbstoffes und die Lugolsche Lösung durch Pikrinsäure.

Methode III.

1) Färbung des fixierten, möglichst dünn und gleichmäßig bestrichenen Präparates mit Anilinwasser-Methylenblau. Wirkung $\frac{1}{2}$ Minute. Abspülen mit Wasser.

2) Aufgießen der Lugolschen Lösung, die $\frac{1}{4}$ Minute einwirken soll. Abspülen mit Wasser.

3) Aufgießen der Esbach-Lösung. Differenzierungsdauer $\frac{1}{4}$ Minute. Wasserspülung.

4) Kontrastierung mit konzentrierter wässriger oder alkoholischer Eosinlösung. Trocknen über der Flamme.

Methode IV.

1) Färbung des fixierten, sorgfältig ausgestrichenen Präparates mit Anilinwasser-Gentianaviolett. Einwirkung wenige Sekunden. Abspülen mit Wasser.

2) Aufgießen der Lugolschen Lösung. Nach ca. $\frac{1}{4}$ Minute Einwirkung Abspülen mit Wasser.

3) Aufgießen der Esbach-Lösung. Wirkungsdauer $\frac{1}{4}$ Minute. Abspülen mit Wasser.

4) Kontrastieren mit alkoholischer oder wässriger Eosinlösung, Wasserspülung, Trocknen über der Flamme.

Die Wirkung dieser beiden Methoden läßt sich sehr anschaulich an Mischkulturen, beispielsweise aus Mundsputum, demonstrieren. Ich gebe die Resultate zusammen mit den Ergebnissen der zur Kontrolle an gleichem Material ausgeführten Methoden I und II der Kürze und Uebersichtlichkeit halber schematisch wieder.

Färbeanalytisch untersucht wurde eine 9 Tage alte Glyzerin-Agar-anreicherung aus Mundsputum (s. Tab. p. 247).

Nach dieser Tabelle sind Methoden I und III, II und IV hinsichtlich ihrer quantitativen und qualitativen Leistung als gleichwertig zu betrachten. — Da die Jodjodkaliumlösung brauchbarerweise durch Pikrinsäure zu ersetzen ist, da ferner zu den Färberversuchen gleichaltes Material verwendet wurde, so kann die Verschiedenheit der Resultate, wie sie zwischen den Methylenblau-Pikrinfärbungen und den Gentianaviolett-

	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV
Einzelkokken	Mehrzahl: rot Wenige: blau-grün	Ziemlich zahlreiche: blau-violett	Spärliche: blau-grün	Ziemlich zahlreiche: dunkelviolett
Staphylokokken	Mehrzahl: leuchtend rot	Wenige: blauviolett	Mehrzahl: leuchtend rot	Rot und dunkelviolett
Streptokokken	Mehrzahl: leuchtend rot	Mehrzahl: leuchtend rot. Sehr spärliche Ketten m. kleinsten hellblauen Individuen	Mehrzahl: leuchtend rot	Dunkelviolett u. rot zu gleichen Anteilen
Tetragenus	Hellblau	Dunkelblauviolett	Hellblau	Dunkelviolett
Stäbchen (Leptothrix u. a.)	Leuchtend rot	Mehrzahl: rot Wenige: hellviolett	Leuchtend rot	Mehrzahl: rot Wenige: hellviolett

Pikrinmethoden besteht, nur auf die Verschiedenheit der angewandten Farbstoffe zurückgeführt werden. Während also durch den Ersatz der Lugolschen Lösung durch Pikrinsäure das Ausfallen der Gramschen Methode nur unwesentlich beeinflusst wird, geschieht dies bei Anwendung von Farbstoffen, die keine dem Gentianaviolett homologe Struktur aufweisen!

Unsere Färbeversuche zeigen deutlich, daß die Differenzierungsfähigkeit und quantitative Leistung der Gram-Methode durch die mitgeteilten vier Kombinationsfärbungen verschiedengradig übertroffen werden. Wodurch ist die Verschiedenheit der Ergebnisse bei anscheinend geringfügiger Modifikation einer Elektivfärbung bedingt? Zur Beantwortung dieser für Praxis und Theorie gleich interessanter Frage müssen wir kurz das Gebiet der Färbe- und Biochemie der Bakterien streifen.

Wie Verschiedenheit der Struktur und des Inhalts das Verhalten jeder anderen Zelle Farbstoffen gegenüber bestimmen, so wird auch die Färbbarkeit der Bakterienzelle durch die gleichen Faktoren, besonders durch die chemische Konstitution ihrer Gesamtleibessubstanz beeinflusst. D. H. Bergey hat diese Beziehung in gleich allgemeiner Fassung auch für das Färbprinzip der Gramschen Methode geltend gemacht. Später hat sie Cedercreutz durch seine interessanten Färbeversuche dahin spezialisiert, daß bestimmte Eiweiß- und Fettsubstanzen, Stärke u. a. im Bakterienplasma seine Färbbarkeit nach Gram bedingen. Außerdem weist Cedercreutz auf die weitgehende Analogie hin, die zwischen Gram- und Säurefestigkeit bestehe. Diese Analogie finden wir an einer Bakterienart, an den Tuberkuloseerregern, trefflich illustriert durch ihre färberisch differenten Formbestandteile, die säurefeste Hülle und die gram-positiven Sporen (Spenglersche Splitter [Sporoidea] = Muchsche Granula). Nach den biochemischen Untersuchungen Deyckes verdankt die fuchsinophile Hülle ihre Säurefestigkeit hauptsächlich der Anwesenheit freier Fettsäuren, zum geringeren Anteil auch der imprägnierenden Wirkung von Neutralfetten, auf welche die Resistenz der Tuberkelbacillen zurückzuführen ist. Die Sporen dagegen enthalten keine Fettsäuren, da sie sonst säurefest sein müßten; als Bedingung für ihre Resistenz und Gram-Festigkeit wird ihre Imprägnierung mit Neutralfetten angenommen. — Die größte Säurefestigkeit weist der ausgereifte Kochsche Tuberkelbacillus (Typus humano-brevis) auf; weniger resistent gegen Säuren sind jüngere Individuen der gleichen Art, sowie Humano-longus (C. Spengler) und Perlsuchtbacillus,

die beiden letzteren in jedem Stadium ihrer Entwicklung. Die Säurefestigkeit kann hier infolge geringen Gehaltes an Fettsäuren und mangelhafter Imprägnierung mit Neutralfetten eine so reduzierte sein, daß die Bacillen das heiß angewandte Karbolfuchsin bei der Säurebehandlung völlig abgeben und die Kontrastfarbe, z. B. Methylenblau, dafür annehmen! Die gewöhnliche Ziehl-Färbung muß in diesen Fällen natürlich vollkommen versagen und entweder durch eine der Spenglerschen Farb-echtmethoden oder eine der oben erwähnten Strukturfärbungen ersetzt werden. Die Hülle der Humano-longi, der Perlsuchtbacillen, der Smegma- und Grasbacillen sind so wenig mit den die Säurefestigkeit bedingenden Fettstoffen imprägniert, daß sie schon kalte Karbolfuchsinlösung annimmt; doch zeigt sie im Gegensatz zu den nicht Säurefesten Alkoholfestigkeit und Farbechtheit, d. h. sie entfärbt sich nicht bei der Alkoholwaschung und nimmt keine Kontrastfarbe an. — In strengstem Sinne ist also nur der ausgewachsene Kochsche Tuberkelbacillus echt säurefest; die übrigen Vertreter der gewöhnlich den Säurefesten gezählten Bakterienarten sind nur bedingt säurefest. Der Alkoholresistenz und Farbechtheit ihrer Hülle wegen stehen sie den gram-positiven Bakterien überaus nahe. Wir haben durch unsere oben angegebenen Färbungen selbst innerhalb der einzelnen gram-positiven Species wiederum scharfe individuelle Unterschiede nachweisen können, die zu den gram-negativen Arten überleiten. Deshalb sind wir zu der Aufstellung berechtigt, daß eine strenge Abgrenzung verschiedener Bakteriengruppen nach Säure- und Gramfestigkeit unmöglich ist. Man darf wohl sagen, daß zwischen den auskeimenden Sporen des Kochschen Tuberkelbacillus über die gram-positiven zu den gram-negativen Bakterien so viele fließende Uebergänge anzunehmen sind, als den verschiedenen Entwicklungsstadien, der chemischen Differenz des Plasmas der einzelnen Bakterien entsprechen! Hier mögen C. Vogts Erörterungen über den Begriff der Species erwähnt sein. Bei eingehender Betrachtung erweise sich dieser Begriff als Produkt der Zeiten, in welchen die Aufmerksamkeit des Forschers vornehmlich auf die höher organisierten Geschöpfe gerichtet war, und in denen man das Mikroskop und die ganze unendliche Fülle der niederen Tier- und Pflanzenwelt noch nicht kannte. Heute sei das ganze Netz der verschiedenen Klassifikationen nur noch für die höher entwickelten Tiere geeignet. Je mehr man dagegen nach unten in der Entwicklungsreihe steige, desto mehr werde der Forscher in Verlegenheit versetzt durch die Fülle neuer Merkmale, die bald übereinstimmen, bald sich kreuzten und schon auf den engsten Gebieten wieder mannigfaltige Abteilungen und Unterabteilungen erforderten.

Außer dieser Kenntnis von der chemischen Konstitution der Tuberkuloseerreger verschafft uns die Färbungsanalyse auch wertvolle Aufschlüsse über ihre Biologie. Nach der Pikrinmethode C. Spenglers oder meiner Karbolfuchsin-Jodfärbung werden Hülle, intrabacilläre und isolierte Sporen in scharf differenten Farbennuancen tingiert. In der verschiedenen Hüllenfärbung, zwischen leuchtendem Rot und Bläßrosa, kommt nach C. Spenglers eingehenden Untersuchungen entweder die mehr oder minder intensive lytische Schädigung der Bakterien oder ihre verschieden weit vorgeschrittenen Wachstumsstadien zum Ausdruck. Die Sporen werden nach C. Spengler, dessen Urteil ich mich anschließe, dem Grade ihrer Virulenz gemäß glänzend schwarz oder leuchtend dunkelrot dargestellt. — Bisher sind die brauchbaren Strukturfärbungen für die Tuberkuloseerreger die einzigen Methoden, die nach dem

Ausfallen der Färbereaktion mit einiger Sicherheit prognostische Rückschlüsse zulassen. So legt C. Spengler — wie die vergleichende klinische Beobachtung zeigt, nicht mit Unrecht — seiner Pikrinmethode prognostischen Wert bei und bezeichnet sie als geeignet vor allem für den Kliniker.

Nicht geringerer Einfluß auf den Färbungseffekt als der Biologie der Bakterien und der chemischen Beschaffenheit ihrer Leibessubstanz kommt der Konstitution der anzuwendenden Farbstoffe zu. Ich möchte jede Zellfärbung als „sichtbare Fixierung einer spezifischen Reaktion“ zwischen den differenten Formbestandteilen der Zelle und den entsprechenden Farbstoffen bezeichnen. Ist diese Definition zutreffend, so müssen wir den in der Einleitung nach ihrer Färbbarkeit klassifizierten Bakteriengruppen genau entsprechende Farbstofftypen gegenüberstellen können. Es lassen sich unterscheiden:

I. Die große Gruppe aller sauren und basischen Anilinfarbstoffe, die zur unmittelbaren Färbung aller Bakterienarten außer den wenigen echten Säurefesten geeignet sind. — Die Fähigkeit dieser Farbstoffe zur Direktfärbung der meisten Bakterien kann wohl nur so erklärt werden, daß die verschiedenen Farbstoffmoleküle gleiche oder ähnliche Gruppen enthalten, die mit genau entsprechenden, allen Bakterien zukommenden Stoffen in Reaktion treten können.

Da trotz mannigfacher Substitution in den auxophoren Gruppen oder beim Ersatz dieser Gruppen selbst, der chemische Grundcharakter der Farbstoffe, in unserem Falle also ihre Affinität zum Bakterienplasma, unverändert bleibt, so ist vermutlich ihre Affinität in der Gleichartigkeit oder Aehnlichkeit der Chromogene begründet. Im Verhältnis zu der enormen Zahl der Teerfarbstoffe ist die Zahl der Chromogene eine so geringe, daß ihnen als gleicher oder ähnlicher Bestand so zahlreicher Verbindungen unbedingt große Bedeutung zukommen muß. Für die bakteriologische Färbetechnik sind hauptsächlich die folgenden von besonderer Wichtigkeit:

1) das Chromogen $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{N} \\ \diagdown \end{array} = \text{C}_6\text{H}_4 = \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{l} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ der Triphenylmethanfarbstoffe (Fuchsin, Malachitgrün, Methylviolett u. a.),

2) das Chromogen $\begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{C}_6\text{H}_4 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{S} \end{array}$ der Thiazinfarbstoffe (Methylenblau u. a.),

3) das Chromogen $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{C}_6\text{H}_4 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \end{array}$ der Xanthenfarbstoffe (Eosin u. a.).

Die unmittelbare Färbung mit den sauren und basischen Anilinfarbstoffen läßt keine speziellere Unterscheidung der Bakterien zu. Sie ist im wahrsten Wortsinne eine Universalfärbung zu nennen, die eine Scheidung weder nach Species noch nach Individuen erlaubt.

II. Elektivfarbstoffe im eigentlichen Sinne wie etwa in der histologischen Technik (Fettfärbung!) existieren nicht, da zu den Elektivfärbungen alle beliebigen Teerfarbstoffe verwendet werden können, allerdings mit mehr oder weniger Erfolg. Ihre Fähigkeit, elektiv sich zu färben, verdanken die betreffenden Bakterien ihrer Resistenz gegenüber bestimmten Agentien (Alkohol, Säuren, Alkalien) und sekundären Farbstoffen (Säurefest- und Farbechtmethoden, Gramsche Färbung). Wie läßt sich die interessante Tatsache erklären, daß einige Bakterien die

Farbe, welche sie bei der Direktfärbung angenommen haben, bei Einwirkung gewisser Agentien wieder abgeben, während andere sie behalten? Auf jeden Fall sind auch hier die Chromogene der Farbstoffe von gleicher Bedeutung wie bei der Universalfärbung. Doch ist für die Resistenz elektiv färbbarer Bakterien wohl eine beizenähnliche Farbfixierung durch das Differenzierungsmittel (z. B. Lugolsche Lösung — Pikrinsäure) anzunehmen. Für die Einbuße eines Farbstoffes, zu dem alle Bakterien affin sind, kommen, wenn wir von einer bloßen Farbstoffextraktion absehen, besondere Bindungsverhältnisse (multiple Bindungen!) zwischen bestimmten Atomen des Farbstoffes und der Bakterienhülle sehr in Frage. Wir besitzen ja in den äußerst labilen ungesättigten Kohlenwasserstoffen (Olefine, Azetylene usw.) mit 2- und 3-facher Kohlenstoffbindung ein vorzügliches Analogon. Bei der Sprengung dieser labilen Mehrfachbindungen spielen Wasserstoff, Halogene und Halogenwasserstoffe sicherlich eine ähnliche Rolle wie bei der Bakterienfärbung die verschiedenen Agentien bei der Entziehung eines primären Farbstoffes. — Die Elektivfärbungen machen bereits eine Klassifizierung der verschiedenen Bakterien möglich. Die Säurefestmethoden sind Artfärbungen, während die Farbechtmethoden als die ersten „Individualfärbungen“ zu bezeichnen sind (verschiedene Entwicklungsstadien einer Art kommen durch verschiedene Farbenreaktion zum Ausdruck!). — Die Gram-Methode stellt wiederum eine Artfärbung vor.

III. Die Individualfärbungen, wie sie bisher durch die Farbechtmethoden und besonders durch die vier mitgeteilten Anilinfarbstoffe — Pikrin-Eosinverfahren — vertreten sind, nehmen eine Mittelstellung zwischen der Universal- und der Elektivfärbung ein. Denn einerseits lassen sie sich bei sämtlichen Bakterien ohne Rücksicht auf Genus oder Species anwenden, andererseits ist die verschiedene Färbbarkeit einzelner Individuen innerhalb ein und derselben Art an ganz bestimmte biologisch-chemische Zustände (Alter, Virulenz etc.) des Bakterienplasmas gebunden. Die quantitative und qualitative Leistungsfähigkeit der Individualfärbungen sind durch die Chromogene der angewandten Farbstoffe mitbestimmt. Dies zeigen uns die Resultate der oben angegebenen vier Färbungskombinationen deutlich. Gleiches Kulturmateriale jeder Art wird bei Verwendung von Methylenblau durchweg feiner differenziert als bei Verwendung von Gentianaviolett und anderer Triphenylmethanfarbstoffe. Dem Methylenblau nahezu gleichwertig ist die Giemsa-Lösung. Die Differenzierung durch Methylenblau kann bei entsprechender Beschaffenheit der Kultur eine so weitgehende sein, daß die blau dargestellten Individuen sogar noch mehrfache, scharf kontrastierende Nuancen aufweisen. So konnte ich wiederholt in Ausstrichen von älteren Staphylokokkenkulturen, die modifiziert nach Gram gefärbt waren (Grundierung mit Methylenblau anstatt mit Gentianaviolett!), außer den roten Individuen schwarzblaue, graublaue und hellblaue Kokken anschaulich machen (Farbentafel, Fig. 3). — Daß sich bei den Individualmethoden mit Gentianaviolett mehr Bakterien färben, und zwar auch solche, welche die Methylenblaufärbung abgeben würden, ist vielleicht mit den überaus zahlreichen Substitutionsmöglichkeiten bei den Triphenylmethanfarbstoffen zu erklären. — Die große Differenzierungsfähigkeit des Methylenblaus ist längst bekannt; ihr verdanken die modernen Azurfärbemethoden ihre Brauchbarkeit. Mitunter genügt schon die alleinige Anwendung des Loefflerschen Methylenblaus, um individuelle Verschiedenheiten zu demonstrieren. Ich denke hier vornehmlich an die Metachromasie, wie sie sich an einzelnen Individuen mancher Hefekulturen durch die Bildung prächtig leuchtender

Azurgranula zu erkennen gibt. Auch in Milzbrandkulturen können wir diese Reaktion gegenüber dem Methylenblau beobachten.

Hier möchte ich besonders betonen, daß die Unmöglichkeit, mit der originellen oder modifizierten Gram-Methode innerhalb einer Bakterienart auch verschiedene Individuen nachzuweisen, auf der vorhin erwähnten Eigentümlichkeit der Triphenylmethanfarbstoffe beruht. Aus dem gleichen Grunde kann die Gramsche Färbung samt allen ihren Modifikationen keinen Anspruch auf Spezifität für die Tuberkuloseerreger, besonders für ihre grampositiven sporoiden Wuchsformen, erheben. Unter allen Umständen erfolgt bei der Gram-Methode eine Mitfärbung gram positiver Bakterien. Der Ersatz des Genvianviolett durch einen anderen Farbstoff der Triphenylmethangruppe ändert am Prinzip der Original-Gram-Färbung ebenso wenig als beispielsweise die Doppelfärbung Knolls mit Fuchsin und Methylviolett, die bei der überaus nahen chemischen Verwandtschaft beider Farbstoffe niemals etwa eine analytische Methode im Sinne Ehrlichs sein kann. Bei den brauchbaren analytischen Simultanfärbungen in der Hämatologie werden nur chemisch derart differente Farbstoffe verwendet, daß sie verschiedene Chromogene besitzen (Beispiel: Eosin-Xanthenchromogen; Methylenblau-Thiazinchromogen)! Die wertvollste dieser analytischen Färbungen ist bekanntlich die Färbung nach Giemsa. Bei jeder Doppel- und Individualfärbung ist also die Möglichkeit einer chemischen Auslese um so eher gegeben, je bedeutender die chemische Differenz der angewandten Farbstoffe ist, sie wird um so geringer sein, je näher die betreffenden Farbstoffe sich ihrer chemischen Struktur nach stehen. Diese Erörterung macht die Empfindlichkeit der neueren spezifischen Strukturmethoden für die Tuberkuloseerreger verständlich. Bei der C. Spenglerschen Pikrinfärbung wirkt das vom Fuchsin chemisch völlig differente Pikrin mit seinen zahlreichen Substitutionsmöglichkeiten zu verschiedenen Anteilen als Farbstoff, als Differenzierungs- und als beizenartiges Farbfixationsmittel! Bei der Karbolfuchsin-Jodmethode übernimmt das reaktionsfähige Jod, das schon für sich elektive Färbungswirkungen zeigen kann (Leptothrix-Färbung, Jodophilie der Leukocyten, Amyloidfärbung etc.), die Rolle der Pikrinsäure.

Zum Schlusse möchte ich noch auf einige Parallelen hinweisen, die sich zwischen der Färbbarkeit der Bakterien, gewissen serologischen und organisch-chemischen Reaktionen, z. B. an den Eiweißkörpern, erkennen lassen.

Dem Unterschied unserer drei Färbungsarten entsprechend, können wir drei Kategorien für die Analogieen dieser Reaktionen aufstellen:

I. Die Universalfärbung stellt eine Allgemeinreaktion vor: Die meisten Bakterien können ohne Rücksicht auf ihre Art-, auf ihre feinen Species- oder Individualunterschiede mit allen beliebigen Anilinfarbstoffen gefärbt werden. — Eine der Universalfärbung analoge Allgemeinreaktion aus dem Gebiet der Serologie ist z. B. die bakterizide Wirkung, die das Normalblut schon physiologischerweise allen Bakterien gegenüber entfalten kann und wie sie sich bekanntlich durch geeignete Kulturversuche demonstrieren läßt. — In der organischen Chemie kommt die allgemeinste Charakteristik der Eiweißkörper beispielsweise in der Xanthoproteinreaktion, in ihrem einheitlichen optischen Verhalten sowie in ihren physikalischen Eigenschaften als Kolloide zum Ausdruck.

II. Die Elektivfärbungen sind spezifische Reaktionen im

eigentlichen Sinne. Die Gramsche Methode kann man insofern eine Gruppenreaktion nennen, als sie keine strenge Speciesdifferenzierung erlaubt: Morphologisch gleichartige, stammverwandte, aber wirkungsverschiedene Bakterien (*Coli*, Typhusbacillen, Paratyphusbacillen) verhalten sich der Gramschen Färbung gegenüber völlig gleichartig. — Als Beispiel einer spezifischen, einer Elektivfärbung analogen Serumreaktion mag die Agglutination angeführt sein, wie sie sich durch Bakterienfällungen durch homologe Immunsere zu erkennen gibt. — Der „morphologischen Gruppenreaktion“ der Gram-Färbung entspricht serologisch die Mitagglutination (serolog. Gruppenreaktion) stammverwandter Bakterienarten durch ein homologes Immunsere (Mitagglutination von Typhusbacillen durch Paratyphusimmunsere oder umgekehrt). Ein Analogon zum Castellanischen Absättigungsversuch aus unseren Färbungskombinationen läßt sich bisher nicht angeben. — Als spezifische, der Agglutination nahestehende Eiweißreaktion kommt vor allem die Präzipitation in Betracht: Die Bildung spezifischer Niederschläge bei der Einwirkung hochwertiger Immunsere auf deren eiweißartige Antigene (Bakterieneiweiß, genuines Eiweiß, Eiweißspaltungsprodukte wie beispielsweise Lecithin in kolloidaler Lösung u. a.). Das interessanteste Beispiel aus dem Gebiet der organischen Chemie stellt die Spezifität der verschiedenen Fermente und Enzyme. Den Uebergang von den amorphen Fermenten (Ptyalin, Trypsin etc.) zu den meisten organisierten, den Bakterien (z. B. *Coli*-Bacillen), bilden die Stoffwechselprodukte der Saccharomyceten, der Milch- und Essigsäurebacillen sowie besonders diejenigen der Erreger der toxischen Infektionskrankheiten. Bei allen diesen ist die Enzym- bzw. Giftwirkung ebensowenig an den Stoffwechsel der lebenden Zelle gebunden als bei den amorphen Fermenten. Es besteht also Gleichwertigkeit der Wirkung bestimmter chemischer Stoffe mit der des lebenden Protoplasmas. Bei den weitgehenden Analogieen zwischen Fermentchemie und Sero-logie liegt es nahe, einige Immunprozesse im Sinne der Fermentlehre, besonders im Sinne der neueren Arbeiten E. Abderhaldens über die Schutzfermente des tierischen Organismus zu deuten. Bemerkenswerterweise bedient sich E. Fischer zur Erklärung der Fermentspezifität des nämlichen Vergleiches wie Ehrlich zur Erklärung der spezifischen Wirkung der Antitoxine. Nach der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie kommt es nur dann zur Verankerung eines Toxins an Rezeptoren, wenn die haptophoren Gruppen des Toxins und der Rezeptoren aufeinanderpassen „wie der Schlüssel zum Schloß paßt“. Nach E. Fischer „müssen Enzym und Objekt wie Schloß und Schlüssel zueinander passen, um eine chemische Wirkung aufeinander auszuüben“. Die Beobachtung Pasteurs, daß gewisse Mikroorganismen (*Penicillium glaucum*) mit Hilfe spezifischer Enzyme racemische, optisch inaktive Verbindungen in solche mit optisch wirksamer Konfiguration überzuführen vermögen, hat bekanntlich das wichtige Zweiggebiet der organischen Chemie, die Stereochemie, mitbegründen helfen. Heute kennen wir bereits eine große Reihe Analgieen und Synthesen als Produkte spezifischer Bakterienenzyme (Ueberführung der inaktiven Milchsäure in die aktive Linksmilchsäure; Bildung von Zitronensäure durch *Cytromyces Pfefferianus* und *Cytromyces glaber* etc.).

III. Die Individualfärbungen sind als individualisierende Allgemeinreaktionen aufzufassen. Sie ermöglichen weder nach Genus noch nach Species eine differenzierende Isolierung. Dagegen fixieren sie bei Bakterien jeglicher Art Zustände, wie sie durch das

Alter und, wie wir annehmen müssen, auch durch Stoffwechselvorgänge der betreffenden Mikroorganismen gegeben sind. Mit zutreffender Präzision hat Schopenhauer als vornehmlichste Charakteristika des Organischen Konstanz der Form und den Wechsel der Materie hingestellt. Die Konstanz einer bestimmten Form hat einen ihr entsprechenden „Stoffwechsel“ spezifischer Natur zur Voraussetzung. Bei den Bakterien besteht dieser Stoffwechsel in der elektiven Aufnahme und Assimilation von Nährstoffen vermittelt der verschiedenartigsten Fermente, sowie in der Ausscheidung plasmafremder Intermediärprodukte. Unsere heutige Methodik ist noch außerstande, diese äußerst komplizierten, chemischen Prozesse in ihrer mannigfachen Beeinflussung der Struktur und damit auch der Färbbarkeit der Bakterien nachzuweisen. Bestimmte physiologische Stoffwechselvorgänge kommen, wie wir gesehen haben, in der verschiedenartigen Färbbarkeit von Bakterien verschiedenen Alters zur Geltung. Um die Fixierung pathologischer Stoffwechselvorgänge handelt es sich beispielsweise bei der mehr oder weniger verminderten Färbbarkeit vieler gleichartiger und gleichalter Bakterien mit atypischer Plasmadekonstitution, wenn etwa die Hüllsubstanz lytisch, oder wie bei der Phagocytose, durch Zymasen (Leukotoxine) lädiert ist. Dieses differente Verhalten, wie es Bakterien jeglicher Art ohne Rücksicht auf Alter oder Virulenz der bakteriziden Serumwirkung und den cellulären Fermenten gegenüber aufweisen können, ist auch das naheliegendste Beispiel einer serologischen Individualreaktion! — Aus der Eiweißchemie kann kein geeignetes, der Individualfärbung analoges Beispiel angeführt werden. Dagegen haben wir in der verschiedenen Polarisierbarkeit aller Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen eine, wenn auch vorwiegend physikalische Individualreaktion vor uns. Verbindungen mit völlig übereinstimmenden chemischen Qualitäten, mit gleichem Schmelz- und Siedepunkt, gleicher Dichte etc. (isomere Amylalkohole, Milch- und Weinsäuren u. a.) verhalten sich infolge gleichgradiger, doch entgegengesetzter Drehung dem polarisierten Lichtstrahl gegenüber verschieden.

Dieser Parallelismus zwischen Struktur des Bakterienleibes und seiner Färbbarkeit einerseits, zwischen serologischen und physiologisch-chemischen Reaktionen andererseits rechtfertigt es, die verschiedenen Bakterienfärbungen als Fixierungen verschiedener, größtenteils rein chemischer Reaktionen zu charakterisieren. Im Vergleich zu den mannigfachen Stoffwechselreaktionen, wie sie durch die Individualfärbungen zum Ausdruck gebracht werden können, spielen wohl eigentliche Fermente bei vielen Bakterien die bedeutendere Rolle; denn sie allein können die spezifische physiologische und pathogene Wirkung der betreffenden Bakterien vermitteln und als Ausdruck hiervon ihre spezifische Färbbarkeit bedingen. Für die praktische Bakteriologie, speziell für die Diagnostik, sind deshalb ebenso wie in der Serologie die spezifischen Methoden die wichtigeren. Die Individualfärbungen und Individualreaktionen serologischer Art (Phagocytose z. B.) haben, für sich allein angewendet, geringen diagnostischen Wert, dienen aber einer wertvollen Ergänzung der Elektivmethoden und sind für das Studium der Biologie und der feineren Morphologie der Bakterien unentbehrlich.

Literatur.

- 1) Abderhalden, E., Schutzfermente des tierischen Organismus. 1913.
- 2) Bergey, D. H., Bericht aus der 7. Jahresversammlg. der Gesellschaft amerik. Bakteriologen zu Michigan. 28. u. 29. Dez. 1905.
- 3) Cedercreutz, Arch. f. Dermat. u. Syphil. Bd. 93. 1908.

- 4) Claudius, Ann. d. l'Institut. Pasteur. T. 2. 1898.
- 5) Czaplewski, Hyg. Rundsch. 1896.
- 6) Deycke, Münch. med. Wochenschr. 1910. No. 12.
- 7) Eisenberg, Ph., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. Heft 5.
- 8) Grimme, A., Centralbl. f. Bakt. Bd. 32. 1902.
- 9) Knoll u. Wehrli, Beitr. z. klin. d. Tuberk. Bd. 14.
- 10) —, Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte. Bd. 15. 1911.
- 11) Kronberger, H., Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 16. Heft 2.
- 12) —, Folia haematol. Arch. Bd. 13. 1912.
- 13) Neide, E., Centralbl. f. Bakt. Bd. 35. No. 4.
- 14) Lange, F. A., Geschichte des Materialismus.
- 15) Pappenheim, A., Grundriß der Farbchemie.
- 16) —, Fol. clin. Bd. 1. 1909, u. Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 24.
- 17) Reddingius, Virchows Arch. Bd. 162.
- 18) Schopenhauer, A., Welt als Wille u. Vorstellung. II. 2. Buch. 23.
- 19) Spengler, C., Tuberkulose- u. Syphilisarbeiten. Davos 1911.
- 20) Unna, Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888.

Erklärungen zur farbigen Tafel.

Die Figuren der Farbtabelle habe ich unter Verwendung der $\frac{1}{12}$ Oelimmersion und des Okulars IV (E. Leitz) in annähernd 1000-facher Vergrößerung angefertigt.

Fig. 1. *Staphylococcus pyog. aureus* (3 Tage alte Glycerin-Agarreinkultur). Original-Gram-Färbung.

Fig. 2. *Staphylococcus pyog. aureus* (3 Tage alte Glycerin-Agarreinkultur). Methylenblau-Pikrin-Eosinmethode. Differenzierung himmelblauer und leuchtend roter Individuen.

Fig. 3. *Staphylococcus pyog. aureus* (11 Tage alte Glycerin-Agarreinkultur). Erwärmtes Methylenblau. Lugolsche Lösung. Eosin. Darstellung leuchtend roter, schwarzblauer, hell- und graublauer Kokken.

Fig. 4. *Staphylococcus pyog. aureus* (11 Tage alte Glycerin-Agarreinkultur). Vorbehandlung mit Aether-Alkohol absol. aa. Modifizierte Gram-Färbung. (Vor-färbung mit Methylenblau statt mit Anilingentianaviolett.) Die meisten Kokken zeigen ein dunkelblaues Zentrum, umgeben von einer eosin gefärbten Zone.

Fig. 5. *Staphylococcus pyog. aureus* (3 Tage alte Glycerin-Agarreinkultur). Gentianaviolett-Pikrin-Eosinmethode. Leuchtend rote und blaviolette Individuen.

Fig. 6. Künstliche Mischkultur von *Bact. coli* und *Staphylococcus pyog. aureus* (Glycerin-Agarreinkultur). Gentianaviolett-Pikrin-Eosin. Leuchtend rote Stäbchen und Kokken, blaviolette Kokken.

Fig. 7. *Bacterium coli commune* (1 Tag alte Glycerin-Agarreinkultur). Methylenblau-Pikrin-Eosinmethode. Himmelblaue und leuchtend rote Bacillen.

Fig. 8. *Streptococcus pyogenes* (1 Tag alte Glycerin-Agaranreicherung aus Mundsputum). Gram-Pikrin-Eosinfärbung. Streptokokkenketten mit leuchtend roten, himmelblauen und blavioletten Gliedern.

Nachdruck verboten.

Ein einfacher Ratten- und Mäusehalter.

Von Stabsarzt Dr. Bierotte, Berlin.

Mit 3 Figuren.

Bei intravenösen Injektionen an Ratten und Mäusen habe ich einen einfachen Apparat zum Fixieren der Tiere vermisst, der ohne große Umständlichkeit zu handhaben ist, die nötige Sicherheit bietet und jede Assistenz überflüssig macht. Zwar gibt es eine große Zahl der verschiedensten Rattenkäfige und ähnlicher Apparate; sie sind auch gewiß zum Teil recht gut brauchbar, aber andererseits zu kompliziert und dementsprechend teuer, oder sie erfüllen ihren Zweck, das Tier möglichst schonend und dabei unbedingt sicher zu fixieren, nur unvollkommen. Ich habe mir deshalb nach meinen Angaben von der Firma F. und M. Lautenschläger, Berlin, einen kleinen Apparat anfertigen lassen, der durch-

1.

2.



3.



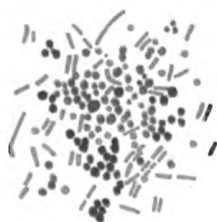
4.



5.



6.



7.



8.



1000

1

Journal of Interpersonal Violence 26(10)

aus nicht den Anspruch erhebt, auf irgendwelchen neuen Prinzipien zu beruhen, der aber meines Erachtens neben seiner Einfachheit und verhältnismäßigen Billigkeit den Vorteil besitzt, für Impfungen an Ratten wie an Mäusen jeder Größe zu dienen und der sich mir bei einer größeren Reihe derartiger Versuche gut bewährt hat.

Der Apparat ist in der Hauptsache nichts weiter als eine nach hinten sich anfangs wenig, dann stärker verjüngende trichterförmige Röhre (a) (s. Abbildung 1), die in ihrem oberen Teil einen größtenteils 8—9 mm breiten, am hintersten Ende schmaler werdenden Spalt (b) aufweist. Senkrecht zur Richtung der Achse sind in den Mantel der Röhre eine

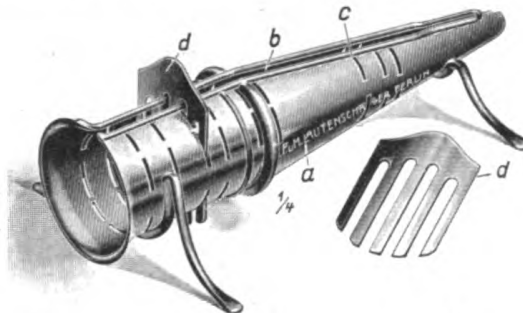


Fig. 1.

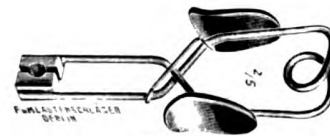


Fig. 3.

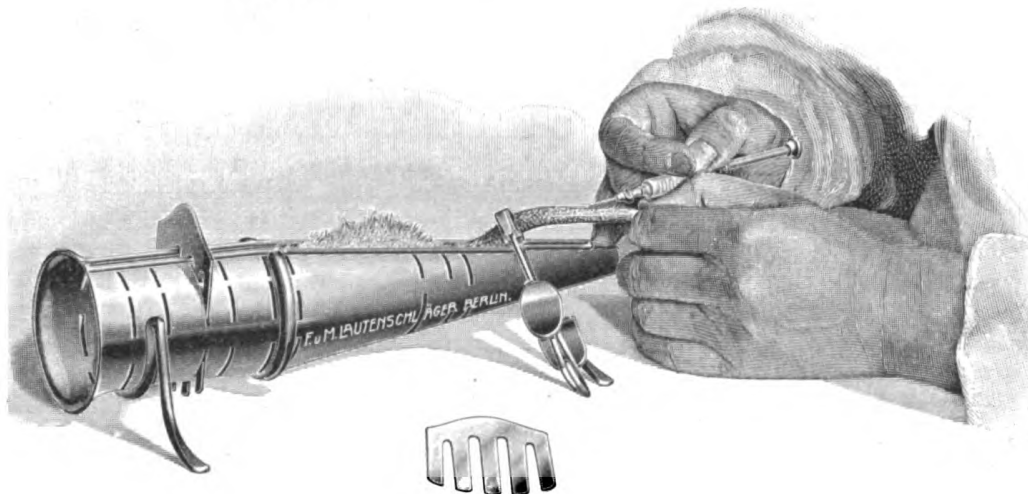


Fig. 2.

Reihe von Einschnitten (c) gemacht, durch die ein 5-zinkiger Vorstecker (d) hindurchgeführt werden kann. Das Ganze ruht auf 2 breit ausladenden, kräftigen, niedrigen Füßen, um ein Umkippen zu verhindern und absolute Ruhigstellung beim Arbeiten zu gewährleisten, und ist noch durch ein Metallband verstärkt, um ein Auseinanderbiegen unmöglich zu machen. Der Apparat ist aus rostfreiem Material hergestellt, so daß er auch vollständig im Dampf desinfiziert werden kann.

Die Handhabung erfolgt so, daß die mit der Rattenzange im Genick gehaltene Ratte mit der linken Hand am Schwanz gefaßt, mit dem Hinterteil vor die Oeffnung der Röhre gebracht und nun am Schwanz rückwärts in den Apparat so weit gezogen wird, bis eine weitere Rückwärtsbewegung nicht mehr möglich ist. Sobald dies geschehen ist, wird der Vorstecker durch den dem Kopfende des Tieres nächsten Spalt ge-

führt; die Ratte ist damit so fixiert, daß sie weder vorwärts noch rückwärts kann; der Schwanz befindet sich außerhalb und kann für die Injektion flach hingelegt werden. In gleicher Weise werden Mäuse behandelt; für diese Tiere ist der hinterste, mit einem schmalen Spalt versehene Teil bestimmt.

Sollte es einmal vorkommen, daß das Versuchstier in der Röhre noch so viel Platz findet, daß es sich um sich selbst drehen könnte, so läßt sich dies dadurch vermeiden, daß man den Schwanz aus der Hand nicht losläßt oder daß man an der Schwanzwurzel eine Klemme anlegt (s. Abbildung 2). Auch kann man das Kopfende des Tieres vorsichtig zurückdrängen oder man wartet den Augenblick ab, wo es sich umdrehen will, um den dem Apparat beigegebenen zweiten Vorstecker in den nächstgelegenen Spalt einzuschieben, und hat damit dann das Tier unbedingt sicher fixiert.

Die beigegebenen Abbildungen werden besser wie die Beschreibung die Einfachheit des Apparates und seine leichte Handhabung dartun. Er ist von der Firma F. und M. Lautenschläger, Berlin, zum Preise von 25 M. zu beziehen.

Die bisher gebräuchlichen Schwanzklemmen erfüllen zwar ihren Zweck durchaus; bei der wohl zumeist benutzten Uhlenhuthschen Klemme hat es sich mir aber als nachteilig herausgestellt, daß man sie nicht mit einem Handgriff lösen kann, ohne dabei — wie es bei intravenösen Injektionen in die Schwanzvene unbedingt vermieden werden muß — die einmal eingenommene Stellung zu verändern. Ich habe mir deshalb eine Klemme anfertigen lassen, die nach dem Prinzip der sich auf Druck öffnenden Pinzetten und ähnlicher Instrumente gearbeitet ist. Die Klemme besitzt eine kräftige Feder und ist an ihrem vorderen verstärkten Ende mit einem ovalen Ausschnitt zur Aufnahme des Schwanzes versehen. Die beigefügte Abbildung 3 erübrigt wohl eine weitere Beschreibung. Die Handhabung ergibt sich von selbst.

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Bampton, J. H., Ueber <i>Violaceus</i> und <i>Membranaceus amethystinus</i>, p. 129.</p> <p>Battaglia, Mario, Einige durch Trypanosomiasis Dromedarii erzeugte Läsionen, p. 182.</p> <p>Bertarelli, E. u. Tedeschi, A., Können bei Behandlung mit Alkaloiden mit Hilfe des Ablenkungsverfahrens wahrnehmbare Antikörper erhalten werden?, p. 225.</p> <p>Bierotte, Ein einfacher Ratten- und Mäusehalter, p. 254.</p> <p>Bongartz, Theodor, Ueber Ludwig Bitters Chinablau Nährböden zur Typhusdiagnose, p. 228.</p> <p>Hölzel, Eduard, Beiträge zur Züchtung, Isolierung und Desinfektion des Rauschbrandbacillus, p. 147.</p> <p>Kronberger, Hans, Zur Färbungsanalytik und Biochemie einiger wichtiger Bakterienarten, p. 240.</p> <p>Marrassini, Alberto, Ueber das Vorhandensein einer den Körper einiger</p> | <p>Bakterien umgebenden Hülle und deren besondere Bedeutung, p. 113.</p> <p>Miyaji, S., Zur Frage nach der Natur der Kurloffschen Körperchen, p. 189.</p> <p>Nägler, Kurt, Experimentelle Studien über die Passage von <i>Schizotrypanum Cruzi Chagas</i> durch einheimische Tiere, p. 202.</p> <p>Pricolo, Antonio, Sur la filaire hématique du chameau, p. 199.</p> <p>—, Strongle capillaire du chameau, p. 201.</p> <p>v. Rätz, Stephan, <i>Trichomonas</i> aus der Leber der Tauben, p. 184.</p> <p>Rhodovi, Georg, Ueber <i>Conradia</i> elektive Ausschüttelung der Diphtheriebakterien mit Kohlenwasserstoffen, p. 233.</p> <p>Rullmann, W., Rückblicke auf die milchhygienischen Forschungen der letzten zwölf Jahre, p. 165.</p> <p>Weil, E., Untersuchungen über die Antigene der antibakteriellen Schutzstoffe, p. 207.</p> |
|---|--|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Nachdruck verboten.

**Die „Meerschweinchenpest“, eine durch filtrierbares Virus
hervorgerufene Meerschweinchenseuche.**

Bericht an die VIII. Vereinigung der Società Italiana di Patologia,
Sitzung vom 27. März 1913.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität (Leiter: Prof. Dr.
L. Pagliani) und dem Institut für Sanitätspolizei der Kgl. Tierarznei-
hochschule (Leiter: Prof. Dr. G. Mazzini) zu Turin.]

Von Dr. F. de Gasperi und Dr. G. Sangiorgi.

Mit 1 Figur.

Seit geraumer Zeit wütet unter den Meerschweinchen in der Um-
gegend von Cirié (Torino) eine unter dem Bilde einer Seuche auf-
tretende schwere Krankheit, die zu ganz bedeutenden Tierabgängen ge-
führt hat. Gegen Ende November 1912 haben wir diese Seuche spontan
in einer ersten Sendung von 29 Meerschweinchen auftreten sehen, die
den genannten Gegenden entstammten und in den Räumen des Instituts
für Sanitätspolizei der Kgl. Tierarzneihochschule in Beobachtung ge-
halten worden sind. Innerhalb kurzer Zeit verendeten diese Tiere,
ohne daß dabei Alter oder Geschlecht irgendeine Rolle spielten, gruppen-
weise, 3, 5 und selbst 9 auf einmal. Auch eine zweite Lieferung von weiteren
27, aus derselben Gegend herkommenden, gegen Mitte Dezember 1912
eingetroffenen Meerschweinchen, die in anderen Räumen desselben Insti-
tuts beobachtet worden sind, wurde vollständig dezimiert. Da es unsere
Absicht war, die Aetiologie dieser schweren Seuche, die inzwischen eine
Sterblichkeitsziffer von 100 Proz. erreicht hatte, gründlich zu erforschen,
so haben wir dieser zweiten Gruppe unsere ganz besondere Aufmerksam-
keit zugewendet¹⁾.

Eine ganz auffallende Erscheinung war das ganz beträchtliche und
zunehmende Abmagern der von der Krankheit befallenen Tiere. Wenige
Tage vor dem Verenden ließen sich an den Tieren einige deutliche, aber
wenig bedeutende Krankheitssymptome wahrnehmen, wie Zobergestehen
der Haare, Zittern, Atemnot, die dann bald anderen schweren Erschei-
nungen Platz machten, die mit dem Nervensystem in Beziehung ge-
bracht werden konnten. Weitere bemerkenswerte Erscheinungen waren
nicht vorhanden.

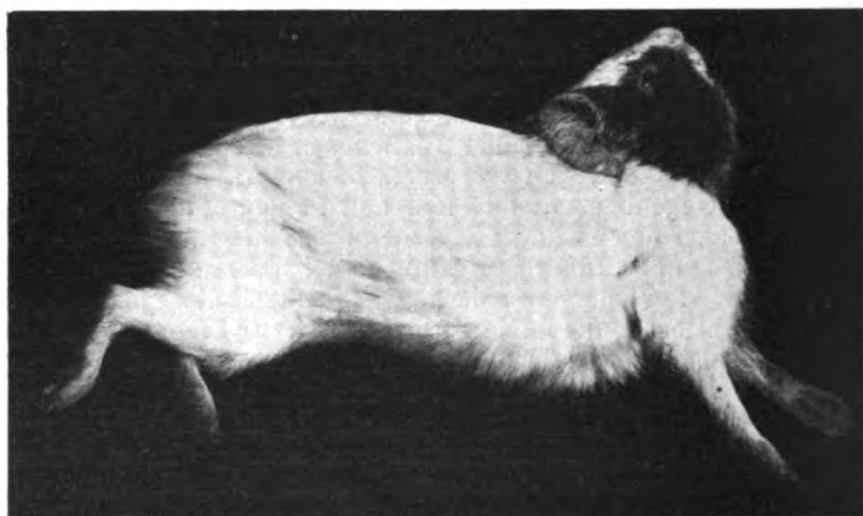
Tatsächlich konnten sich die Tiere nicht aufrecht auf den Füßen
halten, sondern sanken, offenbar von tonisch-klonischen Krämpfen der
Muskeln der Glieder und besonders des Nackens erfaßt, auf der einen
Seite zum Boden nieder (siehe Abbildung). Hypothermie und Zyanose
der Haut und der Schleimhaut begleiteten diese Erscheinungen, die in

1) Das Bestehen der Krankheit wurde von Dr. de Gasperi festgestellt, der
als Erster deren klinische und pathologisch-anatomische Merkmale beschrieben hat.
Ebendenselben haben wir auch die bakteriologischen und hämatologischen Unter-
suchungen zu verdanken. Der Weg zum ätiologischen Studium der Krankheit
wurde von den beiden Verfassern gemeinsam erwogen und festgelegt. Der experi-
mentelle Teil ist von Dr. Sangiorgi durchgeführt worden.

immer kürzer werdenden Zwischenräumen sich wiederholten, stärker wurden und schließlich zum Tode führten.

Bei der an allen, sowohl an den tot vorgefundenen, wie auch im prätetalen Zeitabschnitt getöteten Tieren vorgenommenen Sektion ließen sich keine besonders bemerkenswerten Veränderungen feststellen. Das einzige, was bei der makroskopischen Beobachtung auffiel, war ein starker Blutandrang in allen Eingeweiden und in den Gehirn-Rückenhäuten, die starke Zusammenziehung der linken Herzkammer, zu der die beträchtliche Erweiterung der rechten Herzkammer und der Vorhöfe im Gegensatz stand, und die Erschlaffung des Magendarmkanals. Von Milztumoren, Anschoppung der Lymphknoten, Erguß in die serösen Höhlen fand sich keine Spur.

Zur Erkennung der Aetiologie dieser sonderbaren Seuche haben wir Vorversuche angestellt, mit denen wir das etwaige Vorhandensein eines bakteriischen und protozoischen Virus im Blut und den Organen der



betroffenen Tiere nachzuweisen bezweckten. Trotz vielfach wiederholter bakterioskopischer, sowie Aërobiose und Anaërobiose vorgenommener Prüfungen des Blutes aus dem Herzen und aus Leber und Milz war nichts Positives vorzufinden.

Der negative Ausfall dieser ersten Untersuchungen ließ in uns immer mehr den der Bewertung sämtlicher beobachteten Tatsachen logischerweise entspringenden Verdacht aufsteigen, daß die Ursache der Tierseuche in einem Virus ultramikroskopischer Natur zu suchen sei. In Verfolg dieses Verdachtes haben wir auch unsere experimentellen Untersuchungen entsprechend vorgenommen und sind folgerichtig von dem Organ ausgegangen, das von vornherein auf Grund der beobachteten klinischen Symptome als wahrscheinlicher Sitz des Virus in Betracht kam, nämlich von dem Gehirn eines spontan verendeten Meerschweinchens. So vorgehend, haben wir uns vorgenommen, Klarheit zu schaffen über alle Fragen, die in solchen Fällen von den Forschern erwogen zu werden pflegen, ob nämlich im Gehirn sich ein filtrierbares, serienweise von Meerschweinchen auf Meerschweinchen übertragbares Virus auffinden läßt, ob das Virus auf dieses Organ beschränkt bleibt oder den Gesamtorganismus des Tieres durchzieht, welche Widerstandsfähigkeit und Wirk-

samkeit das Virus besitzt, ob es auf Tiere anderer Art übertragen werden kann usw.

Den ersten Ergebnissen entgegenschend, haben wir es zur genaueren Bemessung der mittleren Zeit, innerhalb deren die von der Krankheit auf natürliche Weise befallenen Tiere verenden, für gut erachtet, eine Gruppe von 15 gesunden Meerschweinchen verschiedenen Alters, die einen Monat lang in einem ganz anderen Raum, dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität, in Beobachtung gestanden hatten, in den Raum des Instituts für Sanitätspolizei der Kgl. Tierärztlichen Hochschule überzuführen, in dem die ersten 29 Meerschweinchen aus Cirie gelebt hatten. Ebenda wurden die neuen Tiere unter denselben Lebensverhältnissen gelassen, wie die abgegangenen, nämlich in keinem Käfig, sondern in einem ziemlich weiten Raum, der keine andersartigen Tiere enthielt.

Auf diese Weise konnten wir die jüngeren Meerschweinchen zwischen dem 10. und 12. Tage und die erwachsenen zwischen dem 12. und 14. Tage unter demselben klinischen und pathologisch-anatomischen Bilde verenden sehen. Dieser Versuch gab uns Aufschluß über einige Fragen, für die wir später im Experiment eine Bestätigung erhielten, ganz besonders aber über die wahrscheinlichste Eintrittspforte des Virus.

Um Fehlerquellen möglichst aus dem Wege zu gehen und uns in die besten Versuchsverhältnisse zu versetzen, hat einer von uns (Sangiorgi) die experimentellen Versuche in einem ganz anderen Raume (Hygienisches Institut der Kgl. Universität) vorgenommen, der mit dem ersteren, in dem die Viehseuche spontan aufgetreten war, keinerlei lokale Beziehungen hatte, und dann mit Tieren, die ganz unzweifelhaft gesund waren.

Experimentelle Untersuchungen.

I. Serie.

In der ersten Serie unserer Versuche haben wir es uns zur Aufgabe gemacht, vor allem das Bestehen eines filtrierbaren Virus im Gehirn eines spontan verendeten Meerschweinchens nachzuweisen, und dann vermittels experimenteller, auf verschiedenen Wegen stattfindender Inokulation seine Uebertragbarkeit in Reihen von Meerschweinchen auf Meerschweinchen.

Die bei den einzelnen Versuchen dieser Serie angewandte Technik ist folgende: Ein Gramm Gehirnschubstanz wurde in einem sterilen Mörser mit sterilem Sand zerrieben; dem so entstandenen Brei wurde so viel sterile physiologische Lösung beigesetzt (20 ccm), bis eine leicht filtrierbare Emulsion zustande gekommen war. Die zuerst durch Papier filtrierte Emulsion wurde dann in Zimmertemperatur (15°) unter Druck (3 Atmosphären) durch eine sterilisierte Berkefeld-N-Kerze filtriert, die den *B. prodigiosus* nicht durchließ. Auf diese Weise wurde in 10–15 Minuten ein Filtrat (F) erhalten, das bei den Beschickungen der Fleischbrühe immer klar und steril war.

1. Experiment: Die Meerschweinchen 1 (525 g) und 2 (580 g) erhalten endoperitoneal je 1 ccm F. (Gehirn) eines spontan verendeten Meerschweinchens.

Meerschweinchen 1 verendet nach 10 Tagen, Meerschweinchen 2 nach 12 Tagen.

2. Experiment: Die Meerschweinchen 3 (300 g) und 4 (490 g) erhalten (wie oben) je 1 ccm F. (Gehirn) des Meerschweinchens 1.

Meerschweinchen 3 verendet nach 2 Tagen, Meerschweinchen 4 nach 8 Tagen.

3. Experiment: Die Meerschweinchen 5 (550 g) und 6 (620 g) erhalten endoperitoneal bzw. subkutan je 1 ccm subkutan je 1 ccm F. (Gehirn) des Meerschweinchens 3.

Meerschweinchen 5 verendet nach 12 Tagen, Meerschweinchen 6 wird am 12. Tage mittels Aderlasses getötet (siehe 8. Experiment).

4. Experiment: Das Meerschweinchen 7 (450 g) erhält subkutan wenige Tropfen F. (Gehirn) des Meerschweinchens 5; $\frac{1}{2}$ ccm desselben Filtrats F. wird Meerschweinchen 8 (415 g) endovenös eingepflegt.

Meerschweinchen 7 verendet nach 6 Tagen, Meerschweinchen 8 nach 5 Tagen.

5. Experiment: Das Meerschweinchen 9 (525 g) erhält endoperitoneal 1 ccm F. (Gehirn) des Meerschweinchens 8. Stirbt nach 4 Tagen.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

a) Daß in der Gehirnschubstanz des spontan verendeten Meerschweinchens sich ein durch Berkefeldkerzen filtrierbares, reihenweise von Meerschweinchen auf Meerschweinchen übertragbares Virus vorfindet.

b) Daß das Virus ohne jede Ausnahme den Tod des Tieres herbeiführt, gleichviel, ob die Inokulation endoperitoneal, subkutan, endovenös, oder subdural stattgefunden hatte.

c) Daß die Wirksamkeit des Virus bei den Uebertragungen von Meerschweinchen auf Meerschweinchen an Stärke zunimmt, und zwar insofern, als sich der Zeitabstand zwischen der Einimpfung und dem letalen Ausgang verringert (siehe 1. und 5. Experiment).

d) Daß bei gleichen Verhältnissen (bei derselben Virusmenge und der Wahl desselben Inokulationsweges) das jüngere Meerschweinchen, bzw. das leichtere, der Wirksamkeit des Virus gegenüber weniger widerstandsfähig ist, als das ältere, bzw. das schwerere Meerschweinchen (siehe 2. Experiment).

Die Versuche haben somit dargetan, daß wirklich in der Gehirnschubstanz der befallenen Meerschweinchen ein reihenweise übertragbares (5 Durchgänge), filtrierbares Virus vorhanden ist. Es war nun ferner noch Klarheit zu schaffen über die Frage, ob das Virus auf das Gehirn beschränkt blieb, oder ob es im Blute zirkulierte. Für diesen letzteren Fall kam dann noch die interessante Frage in Betracht, wie lange Zeit nach der experimentellen Einimpfung das Virus im Kreislaufe nachgewiesen werden konnte.

Zur Lösung der erwähnten Probleme haben wir nachstehende Versuche unternommen, zu denen das Durchgangsvirus herangezogen wurde. Was die Zubereitung des Filtrats der einzelnen Organe betrifft, so unterscheidet sich die Technik in nichts von der vorher beschriebenen.

Zum Nachweis der Virulenz des Blutes haben wir uns sowohl des im Verhältnis von 1:20 mit steriler physiologischer, nachher durch Kerze filtrierter Flüssigkeit verdünnten Blutes, wie auch des ebenso behandelten Serums bedient. In allen Fällen betrug die eingepflegte Menge F immer 1 ccm.

II. Serie.

6. Experiment: Die Meerschweinchen 10 und 11 erhalten subkutan, bzw. endoperitoneal F. (Leber) des Meerschweinchens 4 eingepflegt.

Meerschweinchen 10 verendet nach 6 Tagen, Meerschweinchen 11 nach 5 Tagen.

7. Experiment: Dem Meerschweinchen 12 wird endoperitoneal F. (Lunge) des Meerschweinchens 5 eingepflegt. Verendet nach 6 Tagen.

8. Experiment: Mit F. (defibriertes Blut) des Meerschweinchens 6 wird Meerschweinchen 13 endoperitoneal beschickt. Stirbt nach 6 Tagen.

9. Experiment: F. (Niere) des Meerschweinchens 13 wird endoperitoneal auf Meerschweinchen 14 verimpft. Verendet nach 4 Tagen.

10. Experiment: F. (Blutserum) des Meerschweinchens 24 (siehe 3. Serie) wird Meerschweinchen 15 endoperitoneal einverleibt. Verendet nach 4 Tagen.

11. Experiment: Mit F. der Organe einer zu Meerschweinchen 5 gehörigen Frucht wird Meerschweinchen 16 endoperitoneal beschickt. Verendet nach 3 Tagen.

12. Experiment: Das Meerschweinchen 17 erhält F. (Leber) des Meerschweinchens 9 endoperitoneal. Nach 24 Stunden wird Meerschweinchen 17 mittels Aderlasses getötet und mit seinem defibrierten und filtrierten Blut (Virus 6. Durchgangs) Meerschweinchen 18 peritoneal inokuliert. Dieses Tier stirbt 6 Tage nachher.

Zur Stütze dieses Versuchs mag das dritte Experiment der ersten Serie dienen, das die Infektionsfähigkeit des Gehirns des 2 Tage nach der Inokulation verendeten Tieres dargetan hat.

Auf Grund dieser Versuche kommen wir somit zum Schlusse:

a) Das Virus zirkuliert im Blut; demzufolge sind alle Organe infizierend.

b) Das Virus ist 24 Stunden nach der Versuchsimpfung im Kreislauf nachweisbar.

c) Sowohl das defibrierte Blut wie auch das Blutserum ist virulent.

d) Das Virus geht von der Mutter auf die Frucht über.

III. Serie.

Diese Versuchsreihe sollte uns darüber belehren, auf welche Weise die Verbreitung der Krankheit von Meerschweinchen auf Meerschweinchen vor sich geht. Auf Grund des bei der Beobachtung der spontanen Seuche Festgestellten und unter Anlehnung an das über andere, durch filtrierbares Virus hervorgerufene Tierkrankheiten Bekannte, war die am logischsten erscheinende Vermutung die, daß das Virus in den Organismus des Meerschweinchens durch den Verdauungskanal mit den von dem Kot oder dem Harn eines infizierten Meerschweinchens verunreinigten Lebensmitteln hineingelange.

13. Experiment: Von einer Anzahl am selben Tage spontan verendeter Meerschweinchen wird eine gewisse Menge Harn aufgefangen, dann mit dem 5-fachen Volumen steriler physiologischer Flüssigkeit verdünnt und dann durch die Kerze filtriert. Mit diesem F. (zirka 15 ccm) wird die den in getrennten Käfigen in Beobachtung gehaltenen Meerschweinchen 19 und 20 gereichte Kleie verunreinigt. Ist diese Kleie erschöpft, so werden die Tiere wie unter normalen Verhältnissen weiter ernährt.

Meerschweinchen 19 verendet nach 12 Tagen, Meerschweinchen 20 nach 14 Tagen.

14. Experiment: Von dem Kote des Meerschweinchens 20 werden ungefähr 2 g entnommen und zusammen mit 40 ccm steriler physiologischer Flüssigkeit zu einer Emulsion verarbeitet und dann durch die Kerze filtriert. Mit F. wird dann die den Meerschweinchen 21 und 22 verabreichte Kleie verunreinigt (Versuchsverhältnisse wie oben).

Meerschweinchen 21 stirbt nach 5 Tagen, Meerschweinchen 22 nach 7 Tagen.

Zur Ergänzung dieses Versuchs wurde der nachfolgende vorgenommen, womit bewiesen werden sollte, daß der Tod der Meerschweinchen 21 und 22 wirklich durch das im Kote vorhandene Virus hervorgerufen worden war.

15. Experiment: Die Meerschweinchen 23 und 24 erhalten endoperitoneal je 1 ccm F. (Gehirn) des Meerschweinchens 21.

Meerschweinchen 23 verendet nach 6 Tagen, Meerschweinchen 24 wird am 6. Tag mittels Aderlasses getötet (siehe 10. und 24. Experiment).

16. Experiment: 1 ccm F. (im Verhältnis von 1:10 mit steriler physiologischer Flüssigkeit vermischte Galle) des Meerschweinchens 22 wird dem Meerschweinchen 25 endoperitoneal einverleibt, worauf es nach 5 Tagen erliegt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Virus in den Kot, in den Harn und in die Galle übergeht.

Die unzweifelhaft durch verschiedene Versuche reihenweise und gekreuzt nachgewiesene infektiöse Natur der Ausscheidungen (siehe Experimente 13, 14, 15, 16, 10, 17, 18) berechtigt uns zu der Annahme,

daß die hauptsächlichste Eintrittspforte des Virus der Verdauungskanal sei, und zwar durch Vermittlung der verunreinigten Nahrungsmittel.

Zum Beweis dafür erinnern wir an den Versuch 13, aus dem sich ergeben hat, daß die experimentell auf dem Wege des Verdauungskanals vermittelte der verunreinigten Lebensmittel infizierten Meerschweinchen 19 und 20 nach derselben Zeit verendet sind, wie diejenigen Meerschweinchen, die unter Verhältnissen gehalten wurden, die eine spontane Erkrankung ermöglichten. Dieser Versuch nähert sich den natürlichen Verhältnissen am meisten, denn bei ihm haben wir das von spontan verendeten Tieren kommende Virus (Harn) verwandt. Bei den anderen Versuchen derselben Reihe dagegen sind die Tiere innerhalb eines kürzeren Zeitraums gestorben, da sie mit Durchgangsvirus, also einem verstärkten Virus, behandelt worden waren (siehe I. Serie).

IV. Serie.

Widerstandsfähigkeit und Wirksamkeit des Virus.

a) Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzung.

17. Experiment: Die Meerschweinchen 26 und 27 erhalten beide endoperitoneal je 1 ccm des 1 Stunde lang auf 45–50° gehaltenen F. (Gehirn) des Meerschweinchens 21. Das mit 1 ccm desselben nicht erhitzten Virus beschickte Meerschweinchen 28 dient zur Nachprüfung. Die Meerschweinchen haben alle ungefähr dasselbe Gewicht.

Meerschweinchen 26 verendet nach 3 Tagen, 27 nach 4 Tagen, 28 nach 3 Tagen.

18. Experiment: Die Meerschweinchen 29 und 30 erhalten wie oben je 1 ccm desselben 1 Stunde lang auf 55–60° C. gehaltenen Virus. Das Meerschweinchen 28 (wie oben) dient zur Nachprüfung. Die Meerschweinchen 29 und 30 verenden nach 4 Tagen.

19. Experiment: Mit 1 ccm des 1 Stunde lang auf 65–68° C. gehaltenen F. (Gehirn) des Meerschweinchens 22 werden die Meerschweinchen 31 und 32 endoperitoneal inokuliert. Das mit demselben, aber nicht erhitzten Virus, geimpfte Meerschweinchen 33 dient zur Nachprüfung.

Meerschweinchen 31 verendet nach 10 Tagen, No. 32 nach 8 Tagen, No. 33 nach 6 Tagen.

20. Experiment: Je 1 ccm desselben, 1 Stunde lang auf 70–72° C. erhitzten Virus wird den Meerschweinchen 34 und 35 endoperitoneal eingespritzt. Das Meerschweinchen 33 (siehe Experiment 19) dient zur Nachprüfung. Die Meerschweinchen 34 und 35 bleiben am Leben (30 Tage Beobachtung).

Widerstandsfähigkeit gegen niedere Temperatur.

21. Experiment: 1 ccm des 15 Tage lang (bei einer zwischen +1 und +6° C schwankenden Temperatur) im Eisschrank gehaltenen F. (Gehirn) des Meerschweinchens 1 wird dem Meerschweinchen 36 endoperitoneal eingepflegt; es erliegt nach 6 Tagen.

22. Experiment: Das Meerschweinchen 37 erhält 1 ccm desselben (siehe voriges Experiment, 30 Tage im Eisschrank gehaltenen Virus; es bleibt am Leben (30 Tage Beobachtung).

Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnis

23. Experiment: Die Meerschweinchen 38 und 39 erhalten subkutan je 1 ccm des von einem spontan verendeten Meerschweinchen herrührenden und 7 Tage der Fäulnis ausgesetzten F. (Leber). Die Meerschweinchen verenden nach 7 bzw. 10 Tagen.

Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknung.

24. Experiment: Mit dem 10 Tage lang in einer Petrischen Schale in Zimmertemperatur ausgetrockneten, in steriler physiologischer Lösung aufgelösten und dann durch eine Kerze filtrierten Blut der Meerschweinchen 23 und 24 werden die Meerschweinchen 48 und 49 endoperitoneal inokuliert. Sie verenden nach 8, bzw. 10 Tagen.

Widerstandsfähigkeit gegen reines Glyzerin.

25. Experiment: Das Gehirn eines spontan verendeten Meerschweinchens wird bei Zimmertemperatur in reinem Glyzerin gehalten. Am 14. Tage wird dem gewohnten Verfahren folgend mit 1 g Substanz das F. hergestellt und 1 ccm endoperitoneal dem Meerschweinchen 40 verimpft. Es verendet nach 6 Tagen.

26. Experiment: Am 23. Tage wird ein anderes F. desselben Virus hergestellt und wie oben in die Meerschweinchen 41 und 42 verimpft, die am Leben bleiben (30 Tage Beobachtung).

Widerstandsfähigkeit gegen Karbolsäure.

27. Experiment: Zu 1 ccm des aus dem Gehirn des Meerschweinchens 33 erhaltenen F. wird das gleiche Volumen einer 5-proz. Karbolsäure hinzugesetzt. Nach halbstündigem Zusammensein bei Zimmertemperatur wird die Hälfte der Mischung den Meerschweinchen 43 und 44 subkutan einverleibt. Das Meerschweinchen 45 (Vergleichstier) erhält 1 ccm des unbehandelten Virus. Die Meerschweinchen 43, 44, 45 verenden nach 7—6—8 Tagen.

28. Experiment: Zu 1 ccm des Virus des vorigen Versuchs wird das gleiche Volumen einer 10-proz. Karbolsäurelösung hinzugesetzt. Nach 30 Stunden dauern dem Zusammensein bei Zimmertemperatur wird die Hälfte der Mischung subkutan in die Meerschweinchen 46 und 47 eingespritzt. Beide bleiben am Leben (30 Tage Beobachtung).

b) Wirksamkeit des Virus.

29. Experiment: Nach dem gewohnten Verfahren wird aus einer im Verhältnis von 1:10 hergestellten Gehirnemulsion des Meerschweinchens 27 das F. zubereitet. Mit physiologischer Lösung werden Verdünnungen von F. hergestellt, und zwar: 1:100—1:1000—1:10 000—1:100 000—1:1 000 000—1:10 000 000—1:100 000 000—1:1 000 000 000. Die mit diesen Verdünnungen (1 ccm endoperitoneal) behandelten Meerschweinchen haben alle ungefähr dasselbe Gewicht (ungefähr 300 g).

Meerschweinchen 50 (Vergleichstier F. 1:10 stirbt nach 4 Tagen, No. 51 (1:100) erliegt nach 5 Tagen, No. 52 (1:1000) nach 4 Tagen, No. 53 (1:10 000) nach 4 Tagen, No. 54 (1:100 000) nach 5 Tagen, No. 55 (1:1 000 000) nach 5 Tagen, No. 56 (1:10 000 000) nach 6 Tagen, No. 57 (1:100 000 000) nach 8 Tagen, No. 58 (1:1 000 000 000) bleibt am Leben (30 Tage Beobachtung).

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

a) Das Virus wird erst bei einer eine Stunde lang einwirkenden Temperatur von 70° bis 72° C abgetötet; es widersteht 15 Tage lang im Eisschranke einer zwischen +1 und +6 C schwankenden Temperatur.

b) Das Virus widersteht 6 Tage lang der Fäulnis, 14 Tage lang im reinen Glyzerin und 10 Tage lang der Austrocknung gegenüber. In einer halben Stunde wird es von 5-proz. Karbolsäurelösung abgetötet.

c) Das Virus ist außerordentlich wirksam: 1 ccm einer Verdünnung von 1:100 Millionen tötet ein Meerschweinchen von ca. 300 g in 8 Tagen.

Bei diesen die Biologie des Virus betreffenden Untersuchungen haben wir einen nicht belanglosen Punkt im Auge behalten, nämlich die Notwendigkeit, immer mit einem von demselben Organ herrührenden Virus zu arbeiten, um so etwaigen Widersprüchen aus dem Wege zu gehen, die sich aus den Angaben vieler Forscher ergeben, die sich alle auf dasselbe Virus beziehen.

Das Verdienst, auf diesen Umstand aufmerksam gemacht zu haben, gebührt v. Prowazek. Dieser Forscher hat bei der Prüfung der Widerstandsfähigkeit des Virus der Vogelpest gegen Erhitzung beobachtet, daß das Virus der Leber bei 62° in einer halben Stunde abgetötet ist, das Gehirnvirus dagegen 4 Stunden lang einer Hitze von 65° bis 68° C Widerstand zu leisten vermag. Die größere Widerstandsfähigkeit, die ein Virus in einem bestimmten Organ erwirbt, will man

damit erklären, daß man in dem betreffenden Organ das Erscheinen besonderer widerstandsfähiger Formen des Virus annimmt, der sogenannten „Dauerformen“.

Das Virus dieser Tierseuche ist offenbar eines der bei der Erhitzung am meisten widerstandsfähigen. Von dem Standpunkte aus erinnert es an das Virus des Epithelioma contagiosum der Hühner und an das Virus der Tabakmosaik.

Ganz besonders hervorzuheben ist seine außergewöhnliche Wirksamkeit, die unter den durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten ein Gegenstück nur in dem Virus der Vogelpest findet, das, wie bekannt, auch bei einer Verdünnung von 1:1 Milliarde anzustecken vermag (Russ).

V. Serie.

Uebertragung des Virus auf andere Tierarten.

In dieser letzten Versuchsreihe war es unser Bemühen, das Virus auf andere Arten von Tieren zu übertragen, nämlich auf das Kaninchen und *Mus musculus*. Die *Mus musculus* erwies sich auch dem in starken Dosen eingespritzten Virus gegenüber absolut unempfindlich. Das Kaninchen dagegen hat uns zu Ergebnissen geführt, auf die es sich näher einzugehen lohnt.

Es handelte sich darum, zu erfahren, ob das Kaninchen der spontanen Infektion erliegt oder nicht. Zu diesem Zwecke wurden 10 Kaninchen verschiedener Größe zusammen mit 5 gesunden Meerschweinchen (Vergleichstiere) in den Raum verbracht, wo die zweite Lieferung von 27, aus Cirië kommenden Meerschweinchen verendet war. Ebenda befanden sich Kaninchen und Meerschweinchen unter denselben Lebensverhältnissen und konnten sich vollständig frei darin bewegen. Die Meerschweinchen erlagen pünktlich; die Kaninchen sind mit Ausnahme eines einzigen heute noch (nach mehr als 3 Monaten) beim besten Wohlbefinden. Bei dem nach etwa einmonatlicher Beobachtung spontan verstorbenen Kaninchen ergab die Sektion das Bestehen einer schweren Cysticerkose. Trotzdem wurde aus seinem Gehirn nach dem gewohnten Verfahren ein F hergestellt und dieses den Meerschweinchen 59 und 60 eingespritzt, wonach diese Tiere am Leben blieben (30 Tage Beobachtung).

Zur gleichen Zeit haben wir auch noch andere Versuche angestellt. Wir haben nämlich verschiedenen Kaninchen auf verschiedene Weise teils das Virus eines spontan verendeten Meerschweinchens, teils das Durchgangsvirus eingespritzt. Die Verwendung der beiden Virus verschiedener Wirksamkeit war insofern gerechtfertigt, als in uns von vornherein der Zweifel aufgekommen war, daß das Kaninchen für das aktivere Virus (Durchgangsvirus) empfänglich sein könnte, nicht so jedoch dem weniger wirksamen (spontanen) gegenüber. Das Experiment hat aber dargetan, daß sowohl das eine als auch das andere das Kaninchen zu infizieren vermögen, wenn sie direkt in das Blut des Tieres eingespritzt werden.

31. Experiment: Mit dem aus dem Gehirn eines spontan verendeten Meerschweinchens erhaltenen F. wird das Kaninchen 1 subdural ($\frac{1}{2}$ ccm) beschickt, endovenös das Kaninchen 2 (1 ccm) und endoperitoneal das Kaninchen 3 (1 ccm).

Die Kaninchen 1 und 3 bleiben am Leben (und befinden sich seit mehr als drei Monaten in bestem Zustand), das Kaninchen 2 verendet nach 10 Tagen.

32. Experiment: Das F (Gehirn) des Kaninchens 2 wird ins Peritoneum der Meerschweinchen 61 und 62 eingepfropft, die nach 16 bzw. 14 Tagen erliegen.

33. Experiment: Mit dem F (Gehirn) des Meerschweinchens 6 wird das Kaninchen 4 ($\frac{1}{2}$ ccm) subdural, das Kaninchen 5 (1 ccm) endovenös, das Kaninchen 6 (1 ccm) subkutan und das Kaninchen 7 (1 ccm) endoperitoneal inokuliert. Die Kaninchen 4—6—7 bleiben am Leben (wie oben). Das Kaninchen 5 verendet nach 23 Tagen.

34. Experiment: Die Meerschweinchen 63 und 64 erhalten in die Bauchhöhle 1 ccm des F. (Gehirn) des Kaninchens 5. Sie sterben nach 11 resp. 12 Tagen. Mit dem F. (Gehirn) des Meerschweinchens 63 wird die Bauchhöhle des Meerschweinchens 65 beschickt. Das Tier verendet nach 7 Tagen.

Bei der Sektion der in ziemlich abgemagertem Zustand verendeten Kaninchen 2 und 5 wurden, wenn auch etwas weniger hervortretend, dieselben Erscheinungen beobachtet wie bei den Meerschweinchen. Außerdem bestand beim Kaninchen 2 eine schwere Cysticerkose, die unzweifelhaft zur Erschwerung der Wirkung des Virus beigetragen hat, denn das Tier ist bedeutend früher verendet, als das mit dem stärksten Virus behandelte No. 5.

Was also den Nachweis der Uebertragbarkeit des Virus im Experiment auf das Kaninchen anbetrifft, so ist das mit No. 5 erhaltene Resultat bedeutend zuverlässiger, denn es hat nicht nur dargetan, daß das direkt in die Blutbahn inokulierte Virus sich in dem Organismus des Kaninchens zu vervielfältigen vermag, sondern auch, daß die Wirksamkeit des Virus sich da abschwächt. Tatsächlich hat das nach einem einzigen Durchgang durchs Kaninchen auf das Meerschweinchen überbrachte Virus dieses Tier viel später getötet (siehe Experiment 34), als dies hätte der Fall sein sollen, nachdem seine Wirksamkeit vorher schon durch verschiedene Durchgänge durch das Meerschweinchen erhöht worden war.

Eine darauffolgende Uebertragung des Virus in ein zu seiner Entwicklung geeignetes Milieu genügt aber, um dem Virus seine gewohnte Wirksamkeit wieder zu verleihen (siehe gerade das 34. Experiment).

Diese Abschwächung des Virus nach Durchgängen durch Tiere verschiedener Art, was auch bei anderen durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten (z. B. dem Virus der Hühnerdiphtherie beim Durchgang durch Tauben etc.) festgestellt wurde, könnte uns wohl den Weg weisen, den wir zu gehen haben beim Studium der künstlichen Immunisierung der Meerschweinchen.

Wie leicht festzustellen ist, wurden alle unsere Versuche immer mit filtriertem Virus (F) ausgeführt, das je nach den Umständen bald von spontan verendeten, bald von experimentell behandelten Meerschweinchen (Durchgangsvirus) herrührte. Die nachfolgenden Durchgänge von Meerschweinchen zu Meerschweinchen, denen wir das Virus unterzogen haben, waren 6 (siehe 12. Experiment der II. Serie), eine Zahl, die uns hinreichend erscheint, um damit die serienweise Uebertragung des Virus für absolut erwiesen zu erklären. Die behandelten Meerschweinchen (mit Ausnahme weniger, die im präagonalen Stadium Versuchsbedürfnissen wegen geopfert worden sind) sind (innerhalb einer mehr oder weniger langen Zeitspanne, je nach der Wirksamkeit des Virus und der Widerstandsfähigkeit der Individuen) unter genau denselben klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen verendet, wie die spontan infizierten Meerschweinchen.

Wir haben auch die histologische Untersuchung der hauptsächlich Eingeweide und ganz besonders des Gehirns gebührend gewürdigt und deshalb mit Hilfe der gewöhnlichen Färbungsmittel und der verschiedenen elektiven Mittel (Mann, Stutzer, Volpino, Giemsa) auf etwaige Veränderungen oder das eventuelle Vorhandensein spezifischer Körper gefahndet, die mit andern bei den übrigen durch filtrierbares

Virus hervorgerufenen Krankheiten festgestellten hätten verglichen werden können.

Aber abgesehen von dem schon makroskopisch deutlich wahrnehmbaren Blutandrang und der Schwellung des Epithels der gewundenen Nierenkanälchen hat die histologische Prüfung nichts Bemerkenswerthes zutage zu fördern vermocht.

Ebenso negativ sind die Blutuntersuchungen ausgefallen, mit denen wir den Nachweis etwaiger mit der Zahl der Blutkörperchen und dem Aussehen der Leukocytenformel in Beziehung stehender Veränderungen im Auge hatten.

In der Literatur verfügen wir über zwei neuere Beobachtungen, die von durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten der Meerschweinchen sprechen. Die eine hat Römer im Jahre 1911 vor die 5. Vereinigung für Mikrobiologie zu Dresden gebracht. Die von Römer beobachtete, von ihm „Meerschweinchenparalyse“ genannte und wenigstens in ihrem Endstadium mit der Poliomyelitis der Kinder (Heine-Medinische Erkrankung) verglichene Krankheit unterscheidet sich von der unseren ganz besonders dadurch, daß 1) sie kein epizootisches, sondern sporadisches Auftreten hat, 2) daß das Virus nicht im Blute zirkuliert, sondern im Gehirn und Rückenmark seinen Lieblingssitz hat, sich zuweilen aber auch sprungweise in den Lymphdrüsen der Leiste, den prävertebralen, mesenterialen Lymphdrüsen, in der Milz und in der Leber feststellen läßt.

Ueber die biologischen Merkmale des Virus der Paralyse der Meerschweinchen haben wir keine Angaben. Wir wissen nur, daß es 10 Tage lang in 50-proz. Glycerin zu widerstehen vermag.

Die andere Beobachtung stammt aus dem Jahre 1910 und wurde von Petrie und O'Brien gemacht. Diese Forscher haben eine schwere, bis zu 90 Proz. gehende Seuche unter 500 Meerschweinchen des Instituts Lister in London beobachtet, die einem durch Berkefeldkerze filtrierbaren Virus zuzuschreiben war. Dieses Virus verbreitete sich auf den ganzen Organismus der Meerschweinchen. Den beiden Forschern ist es gelungen, die Krankheit reihenweise mit den Extrakten der verschiedenen Organe weiter zu verbreiten. Die von Petrie und O'Brien gegebenen klinischen und pathologisch-anatomischen Merkmale erinnern stark an die bei unseren Tieren beobachteten.

Diese Angabe, sowie das prozentuell äußerst starke spontane Absterben der Tiere ließ den Gedanken aufkommen, daß die von uns beschriebene Tierseuche sehr wahrscheinlich identisch mit der von den englischen Verfassern beschriebenen sei. Es läßt sich dies aber mit Sicherheit deshalb nicht behaupten, weil Petrie und O'Brien uns über die Biologie des Virus keinerlei Angaben gemacht haben.

Auf Grund der starken Sterblichkeitsziffer und der bedeutenden Wirksamkeit des Virus, zwei Daten, die sich auch in anderen durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten vorfinden, die unter dem allgemeinen Namen Pest laufen (z. B. Vogelpest), bringen wir für die von uns studierte Krankheit den Namen „Meerschweinchenpest“ zum Vorschlag.

Turin, März 1913.

Literatur.

- Petrie, G. F., u. O'Brien, The Journ. of Hyg. 1910.
Römer, Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Refer. Beilage zu Bd. 50. 1911.

*Nachdruck verboten.*Beitrag zur Kenntnis des *B. mallei*.**Morphologisches und Biologisches.**

[Aus dem militär-tierärztlich-bakteriologischen Laboratorium zu Rom.]

Von Dr. Matteo Carpano.

Mit 3 Tafeln.

Nach Entdeckung des Erregers der Rotzkrankheit durch Loeffler und Schütz (1882) und nach den wichtigen Arbeiten Loefflers über denselben Gegenstand (1886) haben sich viele Forscher mit der speziellen Morphologie des *B. mallei* beschäftigt und ihre Untersuchungen haben dazu geführt, daß dieser Mikroorganismus nicht mehr als *Schizomyces*, sondern als ein *Actinomyces* und von einigen als ein echter *Hyphomyces* betrachtet wird.

Bereits Loeffler selbst hatte in den gewöhnlichen Rotzkulturen neben den gewöhnlichen Bacillenformen auch gleichförmige oder körnig aussehende Fäden verzeichnet.

Später beschrieb Kranzfeld (1887) verdickte Fäden, die auch von Bonomi und Viraldi (1892) in Bouillonkulturen beobachtet wurden, denen besondere Substanzen (Neurine und Kadaverine) zugesetzt worden waren.

Semmer (1895) hob in Kartoffelkulturen verdickte und keulenartig endigende Fäden hervor. Dieselben Formen wurden von Krajewsky (1889) in 3 Monate alten Kartoffelkulturen nachgewiesen; bei der Wiederaussaat hatte dieses Material bedeutend längere Elemente als die gewöhnlichen gegeben.

Marx und Levy bemerkten in demselben Jahr (1889) in Kulturen auf Glycerinagar und Kartoffeln verzweigte und keulenartig endigende Fäden.

Diese Beobachter betrachteten die filamentösen Formen in den Kulturen als Degenerations- und Involutionen Zustände.

Lubarsch fand beim Kaninchen, das mit Rotzkulturen unter die Dura geimpft worden war, Fäden mit knospenartigen Verdickungen.

Galli-Valerio (1889) sah in Peptonbouillonkulturen keulenartige Bacillen und pseudoverzweigte Fäden, die er in mit demselben Material geimpften Meerschweinchen nicht wiederfand. Dagegen traf er äußerst kleine körnige Formen im Peritoneum der geimpften Frösche.

Conradi (1900) verfolgte im hängenden Tropfen die Entwicklung der verzweigten und keulenartigen filamentösen Formen. Außerdem erzielte er die Bildung von keulenartigen Elementen in Kulturen, die in Kollodiumsäckchen in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen eingelegt worden waren. Aus seinen Untersuchungen kam er zu dem Schluß, daß der *B. mallei* ein Fadenpilz sei.

Galli-Valerio (1900) ergänzte in einer weiteren Arbeit seine erste Untersuchung durch die Beobachtung des Mikroorganismus im hängenden Tropfen und in verschiedenen Kulturböden. Es gelang ihm, die Rotzinfektion auf eine weiße Maus zu übertragen, in der er fadige Formen von 8–12 μ Länge, die bereits in den Kulturen enthalten waren, wieder vorfand, ohne aber dasselbe Resultat bei Meerschweinchen

und Fröschen zu erzielen. Verf. hielt die filamentösen Formen nicht für Involutionsstadien des *B. mallei*.

Was die feinere Struktur des Erregers der Rotzkrankheit anbelangt, so zeigt sich dieser bekanntlich auch an den mit gewöhnlichen einfachen Anilinlösungen gefärbten Präparaten nicht als homogene Masse; es werden intensiv färbbare Partien mit hellen Zwischenräumen beobachtet. Zur Erklärung dieses besonderen Aussehens sind von den verschiedenen Autoren verschiedene und sich widersprechende Ansichten aufgestellt worden, was darauf beruhen kann, daß bei den betreffenden Beobachtungen Material von verschiedener Provenienz und Ursprung und nicht identische Färbungsverfahren verwendet worden sind. Während so die hellen Zwischenräume von Loeffler als degenerative Erscheinungen gedeutet worden sind, wurden sie von Bonomi und Vivaldi als Vakuolen und von Kitt, Weichselbaum und Preusse als Sporen erklärt. Letzterer Ansicht sind auch Baumgarten und Rosenthal, denen ihre Färbung mit dem spezifischen Verfahren für Sporen und dem Neisserschen für die Färbung der metachromatischen Granula des *Diphtheriebacillus* gelungen sein soll, während Flüge und Boer das Vorhandensein von Sporenformen beim *B. mallei* vollständig in Abrede stellen.

Meine vorliegende Veröffentlichung bezweckt eine nähere Beleuchtung der Kenntnisse über den *B. mallei*, und zwar besonders hinsichtlich seiner Morphologie, mit der dieser Krankheitserreger in den Rotzläsionen angetroffen werden kann, und besonderer in den Kulturen beobachteter Sporenorgane.

Meine Beobachtungen sind an Rotzmaterial aus Lungenknötchen eines Pferdes angestellt. Dieses Pferd gehörte zu einem Kavallerieregiment, das in Sinigallien in Detachement stand, und wurde im September 1911, weil rotzkrank erklärt, getötet.

Das genannte Material wurde zahlreichen Passagen durch Meerschweinchen, abwechselnd mit Kulturen auf Glycerinagar, unterzogen. Durch diese Behandlung wurde seine Virulenz derart gesteigert, daß es bei intraperitonealer Einimpfung einer Spur Agarkultur in männliche Meerschweinchen in ungefähr 12 Stunden die spezifische Orchitis und den Tod des Tieres am 4., bisweilen am 3. Tag bedingte.

Das ursprüngliche Virus hatte den Tod des Meerschweinchens, in dessen Bauchhöhle es eingeimpft worden war, in 16 Tagen herbeigeführt.

Charaktere des *B. mallei* in den Kulturen.

Die ersten mikroskopischen Untersuchungen des Materials in Agarkultur, die am Anfang der Isolierung vorgenommen wurden, zeigten mir die gewöhnlichen Formen des *B. mallei*, wie sie im allgemeinen beobachtet und gemeinhin beschrieben werden: Kleinstäbchenartige, leicht gekrümmte, 2—3 μ lange und ca. 0,4 μ breite, nicht gleichmäßig gefärbte Elemente mit hellen Zwischenräumen, einfach oder mit den Enden zu zweien aneinanderliegend (Taf. I, Fig. 1 und 2).

Nach wenig Passagen durch Meerschweinchen, abwechselnd mit Aussaaten auf Glycerinagar, begann ich in den mikroskopischen Präparaten die Anwesenheit von spärlichen isolierten, 10—20 μ langen und verschiedenartig gekrümmten filamentösen Formen zu bemerken, die die Färbung unregelmäßig annahmen.

Durch die sukzessiven Passagen und somit durch die Steigerung der Virulenz der Kulturen vermehrten sich die filamentösen Formen fast progressiv und erreichten schließlich den gewöhnlichen bakteriellen Elementen gegenüber eine hohe Proportion. Gleichzeitig setzte die Bildung von spindelförmigen und keulenartigen Fäden ein (Taf. I, Fig. 5).

Diese besonderen Formen wiederholen sich gegenwärtig mit einer gewissen Konstanz in den Kulturböden, in denen sie bereits ganz wenige Stunden nach der Aussaat, d. h. im Beginn der Entwicklung, angetroffen werden.

Außerdem sind dieselben, wie wir sehen werden, befähigt, auf die Versuchstiere übertragen zu werden; es fällt deshalb vollständig die Vorstellung, die man von diesen Formen hatte, welche als in den älteren Kulturen anzutreffende Degenerations- und Involutionsprodukte betrachtet wurden.

Als Nährsubstrat bin ich für meine Untersuchungen, nachdem ich deren viele mit Einschluß der von Marx, Galli-Valerio und Conradi benutzten geprüft, bei dem mit Pferdefleischbouillon hergestellten Glycerinagar mit saurer Reaktion geblieben. In diesem Boden, der bei einer Temperatur von 36° gehalten wurde, habe ich äußerst üppige Entwicklungen von filamentösen Elementen erhalten können, und es ist mir gelungen, in ihm sämtliche Formen anzutreffen, die meine Vorgänger in den verschiedenartigen Kulturböden aufgefunden haben.

Als Färbungsverfahren sind zur Erzielung guter mikroskopischer Präparate Beizelösungen zu verwenden, da sich der *B. mallei* nicht mit großer Leichtigkeit färbt. Vorzügliche Resultate habe ich bei Benutzung des Rouxschen karbolsauren Kristallvioletts und des Ziehlschen Karbolfuchsin unter leichtem Anwärmen erzielt. Bei Benutzung der Giemsaaschen Farblösung muß man lang (24—48 Stunden und möglichst bei 30°) färben, wenn man gut differenzierte Präparate erhalten will.

Die fadigen Formen, die ich in den Kulturen finde, haben eine wechselnde Dicke von 0,4 bis 1,7 μ und eine Länge, die von wenigen Mikra bis zu mehreren Hunderten von Mikra gehen kann. Selten zeigen sie sich geradlinig; vielmehr sind sie unduliert in allen Formen, meist um sich selbst gewunden unter Bildung von Ringen und verschiedenartiger Umbiegungen (Taf. I, Fig. 5). Wenn sie in größerer Anzahl vorhanden sind, verschlingen sie sich untereinander und nehmen das Aussehen von wirren Massen an, in denen es schwierig ist, den Anfang und das Ende der einzelnen Elemente festzustellen (Taf. I, Fig. 6 und 7).

Ihre Dicke kann gleichmäßig sein und beträgt alsdann gegen 0,4—0,5 μ . Andere Male verdicken sich die Fäden, die anfangs dünn waren, allmählich und erreichen schließlich zuweilen eine Breite von 1,7 μ , um dann abzunehmen und spitz auszulaufen oder sich von neuem zu verdicken. Andere Male dagegen endet der Faden, nachdem er sich verdickt hat, mit einem abgerundeten Ende: dies sind die besonderen Formen, die unter dem Namen spindelförmige und keulenförmige Fäden gehen.

Bei wiederholter aufmerksamer Untersuchung dieser speziellen Gebilde des Rotzbacillus ergibt sich klar, daß ihr Wachstum ein einseitiges ist, und deshalb läßt sich stets ein nicht wachsendes basales Ende und ein frei wachsendes apikales Ende unterscheiden (Taf. I, Fig. 5).

Diese Tatsache ist von einer gewissen Bedeutung, da sie uns zeigt, daß die Reproduktion dieser Formen nicht wie bei den Schizomyceten erfolgt und daher die Fäden des *B. mallei* den gewöhnlichen Filamenten oder Bakterienketten nicht an die Seite gestellt werden dürfen.

Die Struktur dieser filamentösen Formen ist sehr verschieden.

Sie können sich in ihrer ganzen oder fast in ihrer ganzen Länge gleichmäßig gefärbt zeigen. Diese gleichmäßige Färbung jedoch kann in demselben Präparat sehr hell sein, zuweilen kaum angedeutet, oder aber sich intensiv dunkel erweisen. An den nach Giemsa behandelten Präparaten nehmen die ersteren eine sehr blasse himmelblaue Farbe an; letztere färben sich violett, was beweist, daß in ihnen die Chromatinsubstanz des Kernes den ganzen Faden erfüllt.

Die meisten dieser Mikroorganismen zeigen sich jedoch mit einer intensiven diskontinuierlichen Färbung, d. h. abwechselnd mit hellen Zwischenräumen (Taf. I, Fig. 6, 7, 8). Die dunklen Partien können aus abgerundeten Körnern oder aus wahren Segmenten bestehen, derart, daß sie eine Fraktionierung des Fadeninhaltes veranschaulichen.

Die sich intensiv färbenden Körner haben verschiedene Größe und sind in fast gleicher Entfernung voneinander angeordnet oder nicht selten zu zweien aneinander gerückt und geben so dem Faden selbst ein halsketten- oder rosenkranzartiges Aussehen.

Mit der Giemsa'schen Lösung färben sie sich violett und heben sich sehr gut von den sich ziemlich blaßhimmelblau färbenden intergranulären Räumen ab. Den Chromatinfarben gegenüber verhalten sie sich somit wie echte Kernmassen.

Die Segmente zeigen sich wie die Granula; im allgemeinen jedoch erweisen sie sich als näher aneinanderliegend und durch gradlinige helle Räume getrennt, die den Fäden das Aussehen von Bakterienketten geben.

Auch sie färben sich nach Giemsa intensiv violett.

Die Granula werden am häufigsten in den dünnen Fäden von gleichmäßiger Dicke angetroffen, die Segmente dagegen mehr in den verdickten Formen. Zwischen den einen und den anderen bestehen Uebergangsformen. Nicht selten sind Fäden zu sehen, die nur in einem Teil ihrer Länge Granula oder Segmente enthalten, während der andere Teil sich frei von solchen und deshalb schwach gefärbt oder aber infolge der Kontinuität des Chromatininhaltes stark gefärbt zeigt.

Die spindelartigen und die keulenartigen Formen haben im allgemeinen dieselbe Struktur. In diesen werden jedoch außer den dunklen Partien (Kernmassen) mit zwischengelagerten hellen Zonen (Protoplasmateil) fast vollständig farblose, rundliche oder ovale, fast gleichweit voneinander liegende Räume beobachtet.

Diese Räume, die von einigen Beobachtern für echte Sporenbildungen gehalten werden, sind meiner Ansicht nach als einfache Vakuolen aufzufassen. In der Tat haben von mir mit spezifischen Verfahren für die Sporenfärbung behandelte Präparate nachher weiterhin dieselben farblosen Höfe gezeigt. Nicht genug damit, an diesen speziellen Formen reiche Kulturen wurden durch nur 10 Minuten langen Aufenthalt bei 75° C vollkommen abgetötet, so daß sie sowohl bei den Aussaaten auf die gewöhnlichen Kulturböden wie bei den Verimpfungen in Versuchstiere ein negatives Resultat gaben.

Bei allen meinen Untersuchungen an Material aus den verschiedenartigsten Kulturmedien (mit Einschluß der Marx'schen Karotten) und von verschiedenem Alter ist es mir nie möglich gewesen, wahre ver-

zweigige Formen unter den Fäden, die ich oft in ihrem ganzen Verlauf habe verfolgen können, aufzufinden.

Die genannten Fäden zeigen sich zuweilen eine Strecke weit zusammenliegend und gehen dann unvermittelt auseinander, oder aber einige Elemente liegen mit dem einen Ende auf dem Verlauf eines anderen: hierdurch sind wahrscheinlich die Beobachter irregeführt worden, die in diesen speziellen Anordnungen Verzweigungen zu sehen glaubten.

Auch Galli-Valerio schließt in seinen Untersuchungen über denselben Gegenstand die Anwesenheit von echten verzweigten Formen aus.

An demselben aus den Kulturen stammenden, an filamentösen Elementen reichem Material haben mich die verschiedenen zur Anwendung gebrachten Färbungsverfahren nie die Anwesenheit besonderer Kapseln oder Scheiden erkennen lassen.

In Kulturen auf Kartoffeln und namentlich auf Glycerinkartoffeln ist es mir einige Male möglich gewesen, Bakterienformen von etwas geringerer Länge wie gewöhnlich ($3-4\ \mu$) anzutreffen, die häufig an ihren Enden verdickt waren und morphologisch dem Diphtherietypus von mittlerer Größe nahekamen. Auch diese besonderen Elemente lassen an den gut gefärbten Präparaten intensiv tingierte Stellen erkennen, die ganz das Aussehen von kleinen Kernmassen haben (Taf. I, Fig. 3).

In den unter ungünstigen Lebensbedingungen (hohe und niedere Temperaturen, Zusatz von chemischen Substanzen zu den Kulturböden usw.) entwickelten Kulturen tritt häufig die Bildung von besonderen, morphologisch von den normalen abweichenden Formen ein, die als das Resultat eines Degenerations- oder Involutionsprozesses zu betrachten sind.

Fig. 4 auf Taf. I zeigt ein Präparat aus einer 24 Stunden lang bei 37°C in Glycerinbouillon entwickelten Kultur, die darauf 12 Stunden lang bei 42°C gehalten worden war. In der genannten Abbildung sieht man deutlich, daß die so entwickelten bakteriellen Elemente ihrer Morphologie nach vollständig von den gewöhnlichen abweichen; zu bemerken sind verdickte und gepaarte Stäbchen, isolierte oder rosenkranzartig angeordnete rundliche Granula, ovale einfache oder gesproßte Elemente, die an Blastomycetenzellen erinnern; Elemente in Gestalt einer 8, oder hantelförmig, keulenförmig ... die vollkommen an einige Involutionsformen speziell des Lepa-, Tuberkulose- und Diphtheriebacillus erinnern.

Außerdem ist ihre Färbung sehr schwierig, erfolgt unregelmäßig und häufig unvollständig auch bei Verwendung der stark reizenden Farblösungen.

Eigenschaften des Mikroparasiten in den Rotzläsionen der Meerschweinchen.

Zu diesen Beobachtungen habe ich mich eines Materials bedient, das zum großen Teil aus der Tunica vaginalis von Meerschweinchen gewonnen wurde, denen intraperitoneal eine kleine Menge der oben beschriebenen filamentöse Formen enthaltenden Glycerinagarkulturen, in Kochsalzlösung zergangen, eingeimpft worden war. Der Tod trat, wie oben bemerkt, am 4. Tag und zuweilen ca. 70 Stunden nach der Einimpfung ein, was die hohe Virulenz der benutzten Kultur dartut. Die Ausstriche auf Deckgläschen geschahen mit direkt dem Tier entnommenem Material und wurden nach ihrer Trocknung unmittelbar fixiert.

Für letztere Operation habe ich folgende Lösung verwendet, die mir bei den sukzessiven Färbungen sowohl mit den gewöhnlichen Verfahren wie mit den Chromatinmethoden vorzügliche Resultate geliefert hat:

Destilliertes Wasser	100 ccm
Quecksilberchlorid	4 g
Kaliumbichromat	3 g
Eisessig	2 g

6—8 Tropfen der vorstehenden Härtingsflüssigkeit werden auf die Gläschen gegossen und ca. 5 Minuten darauf belassen, wonach die Präparate reichlich gewaschen und zur Ausscheidung der letzten Sublimat-spuren für weitere 5 Minuten in Jod-Alkohol eingelegt werden.

Was die Färbung anbelangt, so habe ich vor allem die Chromatin-lösungen verwendet, die mich die feinsten morphologischen Eigentümlichkeiten des Parasiten, wie ich sie im folgenden beschreiben werde, haben erkennen lassen. Die Giemsa'sche Flüssigkeit, im Verhältnis von 1:30 in destilliertem Wasser verdünnt, färbt den *Bac. mallei* der Rotzläsionen in ca. 16—24 Stunden sehr gut.

Zur übersichtlicheren Beschreibung der verschiedenen in den genannten Präparaten aufgefundenen parasitären Elemente teile ich sie in:

kleine Formen,
mittlere Formen,
lange oder fadige Formen,
intracelluläre Formen.

Kleine Formen.

Sie sind ähnlich denjenigen, die im allgemeinen in den Kulturen und in den gewöhnlichen Rotzläsionen aufgefunden werden. Ihre Dimensionen sind variabel, von 2 bis 4 μ . Länge bei einer Dicke von ca. 0,5 μ ; gebildet sind sie durch eine mehr oder weniger intensiv himmelblau färbbare Protoplasamasse und gut distinkte und definierte Kernmassen, die die charakteristische violettrote Farbe des Chromatins annehmen.

Ihre Richtung ist selten eine geradlinige, fast stets zeigen sie sich leicht C- oder S-förmig gekrümmt. Die Dicke erhält sich gleichförmig in dem mittleren Teile, während sie sich an den Enden etwas verdünnt und diese zuweilen auch mit einer Spitze endigen können (Tafel. II, Fig. 1—5).

Der Chromatinkern von etwas wechselnden Dimensionen kann einfach sein, wird aber zuweilen auch in Zweizahl beobachtet. Er kann die Form eines Körnchens (Fig. 3—4) eines kurzen Stäbchens (Fig. 5) eines Zwiebacks (Fig. 6) annehmen, welche Formen zweifellos die sukzessiven Stadien eines Teilungsprozesses vorstellen.

Bisweilen nimmt der Kern das Aussehen eines kleinen Ringes oder eines Komma an.

Die genannten Kerne liegen im allgemeinen im Zentrum des Parasiten, andere Male sind sie an die Enden verlagert und geben dem Bakterium die bipolare Form oder, wenn die Kernmasse eine einzige ist und an einem Ende liegt, das Aussehen der bacillenförmigen Elemente der *Theileria parva* et *mutans*.

In diese Kategorie rechne ich auch die kleinsten und granulären Formen, die es mit diesem speziellen System der Chromatinfärbung möglich ist, in den Rotzläsionen des Meerschweinchens aufzufinden.

Diese Elemente gehen nicht über die Dimensionen von 2 μ Länge hinaus. Sie haben die Gestalt eines kurzen Stäbchens (Fig. 3) oder einer kleinen Spindel (Fig. 4) und zeigen sich gebildet durch eine ziemlich große Chromatinkernmasse und eine leichte Protoplasmakontur, die zuweilen kaum zu unterscheiden ist.

Die granulären Formen bestehen ebenfalls aus einem Chromatinkern mit einem leichten protoplasmatischen Hof (Fig. 1—2). Diese Formen nähern sich vollkommen den Muchschen Granulationen, die zuerst von Much bei der Tuberkulose beobachtet und dann späterhin von Wirths, Schottmüller, Liebermeister, Geipel, Gasis, Trunek u. a. sowohl allein wie vergesellschaftet mit bacillären Formen in pathologischen Produkten (Expektoraten, kalten Abszessen, Knochen- und Gelenkherden, vom Lupus invadierten Geweben etc.) der menschlichen und Rindertuberkulose aufgefunden und studiert wurden.

Ueber die Bedeutung dieser tuberkulösen Granulationen ist es noch nicht möglich gewesen, sich mit Sicherheit auszusprechen.

Much glaubt daß es sich um eine Entwicklungsform des Kochschen Bacillus handle.

Was die speziellen zuerst von mir bei dem *B. mallei* beobachteten Granulationen anbelangt, so glaube ich unter Berücksichtigung ihrer besonderen Morphologie, daß sie sich aus der Teilung und Zerstückelung der bacillären Formen, vor allem aber von den filamentösen die, wie wir später sehen werden, in den pathologischen Produkten angetroffen werden können, herleiten und ihrerseits den Anfang neuer bacillärer Elemente bilden dürften.

Mittlere Formen.

Diese Formen haben im allgemeinen eine Länge von 5 bis 15 μ bei einer mittleren Breite von 0,5—0,6 μ , die zuweilen in speziellen Formen 1,5 μ erreichen kann (Taf. II, Fig. 6—20).

Ihre allgemeine Richtung ist fast immer leicht C- oder S-förmig gekrümmt; bisweilen ist sie eine geradlinige oder unregelmäßig gebogene.

Unter diesen mittleren Formen muß ich unterscheiden die einfachen, die gepaarten und die speziellen Formen.

Die einfachen sind morphologisch identisch mit den kleinen. Die Kerne nehmen intensiv das Rot an, während sich das Protoplasma nicht gleichmäßig himmelblau färbt, sondern häufig Verdichtungen und Vakuolen sehen läßt, die dem Element ein granulöses Aussehen und unregelmäßige Kontur geben.

Die Lage des Kernes ist im allgemeinen im zentralen Teil des Bacillus, im Sinne der größten Länge angeordnet, Fig. 6. Zuweilen jedoch liegt er schräg, so daß er zum Teil aus den Konturen heraustritt (Fig. 7—8).

Er hat rundliche, stäbchen-, zwieback-, 8-artige Form d. h. alle Uebergangsformen der gewöhnlichen Kernteilungen. Das Vorhandensein dieses Kernteilungsprozesses wird weiterhin noch dadurch dargetan, daß in einigen Elementen ein einfacher, in anderen ein doppelter Kern bemerkt wird; in noch anderen werden vier beobachtet, die fast stets zu zwei und zwei angenähert sind (Taf. II, Fig. 6—9).

In einigen Individuen hat das Wachstum der Kernchromatinmasse nicht den Teilungsprozeß im Gefolge; sie zeigt sich alsdann in Form eines Stäbchens, das zuweilen einen großen Teil der Länge des Bakteriums einnimmt (Taf. II, Fig. 12).

Bei diesen einfachen Formen werden Elemente angetroffen, deren Protoplasma sich intensiv blau färbt, so daß es die Kernmassen kaum erkennen läßt (Fig. 14). Andere dagegen färben sich schwach, weisen sehr markante Vakuolen auf und sind oft vollständig kernlos (Fig. 15). Letztere sind als in Degeneration begriffene Formen zu betrachten.

Die gepaarten Formen unterscheiden sich in solche, die aus mit den Enden verbundenen Elemente zusammengesetzt sind, und in solche, deren Elemente der Länge nach nebeneinander gelagert sind.

Die ersten sind ein Produkt des Teilungsprozesses: die beiden resultierenden Bakterien bleiben eine Zeitlang aneinander haften und sind denen ähnlich, die im allgemeinen in den Kulturen angetroffen werden.

Die der Länge nach gepaarten Formen sind fast eine Eigentümlichkeit der Rotzläsionen. Die einzelnen Individuen sind parallel angeordnet oder X- und V-förmig gekreuzt, wobei sie miteinander ziemlich spitze Winkel bilden (Fig. 20). Diese besondere Anordnung scheint durch ein Haftvermögen gegeben, das wahrscheinlich durch die Anwesenheit einer, wie wir sehen werden, die einzelnen Bakterien umgebenden Kapsel verursacht ist.

Die speziellen Formen sind von mir in ziemlich großer Anzahl in dem Rotzmaterial des Meerschweinchens beobachtet worden.

Ich beschreibe die hauptsächlichsten, die ich mit den Namen verdickte, hantelförmige, spindelförmige und keulenförmige unterscheide.

Die verdickten sind gegeben durch Elemente von ansehnlicher Dicke, d. h. die eine Breite von 0,8—1 μ bei wechselnder Länge erreichen können. Die feinere Struktur weicht etwas von den übrigen ab, namentlich durch die ziemlich großen Kernmassen, welche eine runde und ziemlich regelmäßige Form bewahren und ziemlich gleich weit entfernt angeordnet sind. Das Protoplasma zeigt sich zuweilen intensiv und unregelmäßig gefärbt und läßt Vakuolen sehen, andere Male färbt es sich schwach und gleichförmig (Fig. 16). Einige Formen weisen große, gleiche und nahe aneinander liegende Kerne und eine spärliche Menge Protoplasma auf: diese Elemente haben das Aussehen von kurzen Streptokokkenketten.

Die hantelartigen Formen sind durch Bakterien gegeben, deren Enden sich verdickt zeigen meist durch die Anwesenheit von ziemlich ansehnlichen Kernmassen an den Enden selbst (Fig. 13 u. 17).

Morphologisch nähern sie sich denen, die häufig in den Rotz-Kartoffelkulturen beobachtet werden, und mehr noch den hantelartigen Formen des *Corynebacterium diphtheriae*.

Die spindel- und keulenartigen Formen sind durch ziemlich große Elemente gebildet, die 15 μ Länge und eine größte Dicke von 1—5 μ erreichen können. Während das eine Ende verdünnt ist, verdicken sie sich allmählich bis zur Erreichung der größten Breite, worauf sie entweder allmählich in einer Spitze auslaufen (Fig. 19) oder mit einem plumpen, abgerundeten Ende endigen (Fig. 18).

Ihre Richtung ist selten eine gradlinige; im allgemeinen zeigen sie sich S-artig gekrümmt und erinnern an die entsprechenden Formen, die ich in den Kulturböden beschrieben habe. Ihr Protoplasma färbt sich unregelmäßig und läßt Verdichtungen der Protoplasmasubstanz und Vakuolen sehen, während die Kerne, in verschiedener Anzahl und von verschiedenem Aussehen, sich reihenweise längs des Verlaufes des Parasiten anordnen.

Lange oder fädige Formen.

Diese Elemente, die sich bei einigen Meerschweinchen in ziemlich reichlicher Zahl darbieten, besitzen Dimensionen, die von 15 μ bis zu 50 und zuweilen 65 μ Länge gehen können, während sie eine fast konstante Dicke beibehalten, die von 0,4 bis 0,7 μ geht (Taf. II, Fig. 21—27).

Wie man sieht, erreichen diese Formen, obwohl sie sehr lang sind, doch nie die Dimensionen, denen man in den Kulturen begegnet.

Ihre Richtung ist im allgemeinen gewellt. Zuweilen zeigen sie sich mit dem Aussehen von echten Spirillen mit breiten und wenig ausgeprägten Krümmungen (Fig. 21, 24, 25), andere Male einfach S-förmig, während sie sich noch andere Male stark gekrümmt zeigen (Fig. 22). Es fehlen auch nicht gewundene, ösenartig umgebogene und verschlungene Elemente (Fig. 26, 27).

Die Dicke dieser Parasiten kann gleichmäßig oder leicht halskettenartig sein; in letzterem Fall entsprechen die Verdickungen fast stets den Kernmassen.

Das Protoplasma färbt sich in den verschiedenen Elementen in etwas veränderlicher Weise. Während sich solche finden, in denen es ein kaum wahrnehmbares Himmelblau annimmt, so daß die Chromatinkerne stark hervortreten, gibt es andere, in denen es sich intensiv blau färbt, so daß dadurch die Kernmassen selbst fast verdeckt werden (Fig. 23).

Die Kerne sind veränderlich nach Zahl, Größe und Lage. Es fehlt nicht an filamentösen Formen mit nur einem Kern, der in diesem Fall stets größer als gewöhnlich ist und eine Länge von mehreren Mikra erreichen kann. Im allgemeinen jedoch sind sie zahlreicher, haben die Form von Körnern oder kurzen Stäbchen und sind ziemlich regelmäßig entweder in der ganzen Länge des Fadens (Fig. 25—26) oder nur in einem Teil desselben (Fig. 24) verteilt. Im ganzen wird jedoch eine gewisse Beständigkeit darin bemerkt, daß die Kerne zu zweien nahe aneinander liegen (Fig. 26), was, wie gesagt, die Existenz des Kernteilungsprozesses dartut.

In einigen filamentösen Elementen folgen sich die Kernkörner von rundlicher Form mit einer gewissen Regelmäßigkeit; der Faden gewinnt dann ein elegantes, rosenkranzartiges Aussehen.

In diesen Filamenten ist häufig der Anfang einer multiplen Spaltung in zahlreiche ganz kleine und kurze Elemente zu sehen. Unzweifelhaft müssen aus der Segmentierung dieser Fäden die in den pathologischen Produkten aufzufindenden granulären Formen hervorgehen, die ich den in tuberkulösen Läsionen zu beobachtenden Murchsen Granulationen an die Seite gestellt habe.

Intracelluläre Formen.

Vielmals habe ich im eiterartigen Exsudat und in den Vaginalis-knötchen der mit Rotz geimpften männlichen Meerschweinchen besondere Zellen oder Zellreste von epitheloidem Aussehen beobachtet, die eine wechselnde Anzahl von Rotzbacillen einschlossen.

Diese Zellen sind von unregelmäßig runder oder ovaler Form und besitzen eine ziemlich variable Größe von 8—30 μ .

Sie bestehen aus einer Protoplasma-masse von homogenem Aussehen, die sich mit den Chromatinlösungen mehr oder weniger intensiv himmelblau färbt, und aus einem oder bisweilen zwei oder drei ovalen Kernen

18*

von nicht großen Dimensionen, die mit denselben Chromatinlösungen eine ziemlich dunkel violette Farbe annehmen und meist exzentrisch liegen.

In einigen Zellen fehlt der Kern vollständig: sie zeigen sich alsdann als Protoplasmafüllen, die sich im allgemeinen sehr schwach färben (Taf. I, Fig. 10; Taf. II, Fig. 30, 31).

Die Zahl der in den Zellen enthaltenen Bakterien ist sehr variabel: von einem bis zu einigen Hunderten. In letzterem Fall zeigen sie sich eng zusammengepfropft und nehmen das ganze Protoplasma ein (Taf. III, Fig. 1).

Diese endocellulären Mikroorganismen bestehen aus Elementen der 3 Formen, die ich als kleine, mittlere und lange oder fadige bezeichnet habe. Die kleinen ordnen sich im allgemeinen in Palissaden oder Bündelchen an, die ihrerseits im ganzen Protoplasma verteilte Gruppen bilden (Taf. II, Fig. 23—31; Taf. III, Fig. 1). Die langen oder fadigen Formen ordnen sich dagegen meist zentralwärts zu einem Büschel an, wobei die verschiedenen Elemente verschiedenartig gekreuzt sind, aber zum Parallelismus neigen. Diese Fäden geben dadurch, daß sie sich häufig spitzwinklig anordnen, den falschen Eindruck, als ob verzweigte Formen vorhanden wären (Taf. I, Fig. 11; Taf. III, Fig. 2).

Eine Tatsache, auf die ich mir die Aufmerksamkeit zu lenken erlaube, ist die, daß die intracellulären Bakterien sich stets sehr gut färben, sowohl in ihrem protoplasmatischen Teil wie in dem nukleären; sie zeigen auch mit großer Deutlichkeit sämtliche Phasen der Zellteilung, was an ihre vollständige Vitalität und überdies an eine intensive Vermehrungstätigkeit glauben läßt.

Durch die übermäßige Anhäufung dieser Bacillenformen im Innern der Zelle wird deren Kern an die Peripherie verschoben und ragt zuweilen aus dem Zellumriß hervor. Diese Erscheinung könnte den Ursprung der nur aus dem Protoplasma bestehenden parasitenführenden Zellformen erklären, die als Zellen aufzufassen wären, aus denen die zugehörigen Kerne ausgetreten sind. Eine andere Erklärung, die von denselben Formen gegeben werden könnte, ist die, daß der Kern atrophiert ist oder durch degenerative Vorgänge unfärbbar geworden ist.

Diese nur aus dem Protoplasma bestehenden Zellen färben sich, wie gesagt, schwach, und es finden sich solche, bei denen es kaum möglich ist, die Anwesenheit der zarten Kontur zu erkennen, die die parasitären Elemente einschließt (Taf. I, Fig. 10; Taf. II, Fig. 30, 31).

Wenn auch dieser Protoplasma Rest verschwindet, bleibt ein Bacillenhäufen oder -bündelchen zurück, das somit einen intracellulären Ursprung hätte (Taf. II, Fig. 32).

Dieser speziellen parasitenführenden Zellen tut kein Beobachter bei den Rotzinfektionen Erwähnung. Sie haben ihr volles Gegenstück in den Rufferschen Actinomyceszellen, den tuberkulösen Riesenzellen von Rokitsansky, Langhans und Virchow und ganz besonders in den Kugeln und Leprazellen von Hansen, Boeck und Danielsen, denen sie morphologisch gleichen.

Diese besonderen histopathologischen Elemente, die ich als Rotzzellen bezeichne, sind nicht als Ausdruck der Phagocytose, sondern als echte Beispiele des cellulären Parasitismus zu betrachten.

Anwesenheit einer Kapsel beim *B. mallei* der Läsionen.

Kein Beobachter hatte meines Wissens bisher von einer Kapselhülle um den Rotzbacillus der Läsionen gesprochen.

Außerst dünne Ausstriche, hergestellt mit Vaginalisexsudat und nodulären Produkten der an Rotzinfektion verendeten Meerschweinchen, wie auch mit Material aus Lungeninfiltrationen und angeschoppten Lymphdrüsen wegen Rotzkrankheit getöteter Pferde, nach vollständiger Trocknung ca. 5 Minuten lang mit meiner Fixierungsflüssigkeit behandelt und 2 bis 3 Minuten lang mit Ziehlschem Karbolfuchsin unter leichtem, aussetzenden Erwärmen gefärbt, weisen deutlich und konstant eine Kapsel um die Bacillenleiber nach, Taf. I, Fig. 9; Taf. II, Fig. 33.

Das gleiche Resultat wird auch erhalten bei Herstellung der Ausstriche in Gegenwart von Wasserdampf (über einem Gefäß mit heißem Wasser), wobei sie, noch nicht trocken, durch Osmium-Essigsäuredämpfe (10 ccm 2-proz. Osmiumsäure + 10 Tropfen Essigsäure) fixiert und in der Wärme mit Karbolfuchsinlösung gefärbt werden.

Diese Kapsel zeigt sich als heller Hof von wenigen Zehnteln μ Dicke, der vollständig die Bakterienelemente umgibt und sich nach außen von dem diffusen, ziemlich intensiv gefärbten Plasma des Präparates scharf absetzt. Dieser Außenrand läuft im allgemeinen parallel zu den Konturen der betreffenden Bakterien sowohl bei den einfachen Formen wie bei den gepaarten, bei welcher letzteren er durch eine Einschnürung die Trennungsstelle der beiden Individuen bezeichnet. Zuweilen zeigt sie sich auf eine Seite des Bakterienleibes verlagert; so ist nicht selten die Anwesenheit der Kapsel allein ohne Inhalt zu beobachten, wenn dieser durch die verschiedenen Manipulationen daraus entfernt wird.

Die Kapsel wird sichtbar nicht nur an den gewöhnlichen Formen des *B. mallei*, sondern auch an den fadigen und an den granulären. Ja, an etwas dicken Präparaten werden diese verschiedenen parasitären Elemente, namentlich die granulären, eben dank der Anwesenheit der relativen Kapsel erkennbar. Dies ist bei den mikroskopischen Untersuchungen von pathologischen Materialien zur Sicherstellung der Diagnose auf Rotz von nicht geringer Bedeutung.

Sporenformen im Erreger der Rotzkrankheit.

Bei der Beschreibung speziell der spindel- und keulenförmigen Elemente des Rotzbacillus sowohl in den Kulturen wie in den entsprechenden Formen der malleösen Läsionen habe ich hinsichtlich kleiner, rundlicher, heller Räume, die besonders an den gefärbten Präparaten wahrgenommen werden, darauf aufmerksam gemacht, daß die von einigen Beobachtern gegebene Deutung, wonach diese hellen Zonen als Sporenbildungen aufgefaßt wurden, nicht richtig war. Ich begründe diese meine Behauptung, indem ich die Resultate einiger meiner Versuche in der Hinsicht anführe: Die Produkte, die eine ziemliche Anzahl von Formen mit hellen Räumen enthielten, zeigten sich nicht resistenter als die gewöhnlichen, überdies sah ich auch nach Behandlung der nämlichen Produkte mit den besonderen Verfahren für die Färbung der Sporen dieselben farblosen Zonen wieder.

Diese Beobachtungen führten mich zu dem Schluß, daß jene hellen Punkte nichts weiter waren als Vakuolen, wie dies bereits von einigen Beobachtern vermutet worden war.

Bei Prüfung der Vitalität einiger Kulturen des *B. mallei*, die filamentöse Formen enthielten und an kühlem Ort unter Lichtabschluß aufbewahrt wurden, habe ich beobachtet, daß, während das Material einiger Reagensgläser bei der Wiederaussaat nach ungefähr 3 Monaten nicht mehr zur Reproduktion befähigt war, anderes dagegen aus Kultur-

böden der gleichen Beschaffenheit sich auch nach einem viel längeren Zeitraum und sogar nach ungefähr 1 Jahr noch lebensfähig erwies.

Bei Untersuchung dieser in bezug auf ihre Vitalität so verschiedenen sich verhaltenden Kulturen an gefärbten Präparaten habe ich an letzterem Material, d. h. dem noch aktiven, die Anwesenheit von besonderen Körpern konstatieren können, die ich ohne irgendein Bedenken als Dauerformen oder Sporenelemente aufgefaßt habe.

Die Bildung derartiger Organe erfolgt nicht in sämtlichen Nährböden, noch ist sie für denselben Boden konstant, auch wenn filamentöse Formen vorliegen.

Beobachtet habe ich sie in 4-proz. Pepton- oder Glycerinbouillon von leicht saurer Reaktion, in Peptonkartoffelbouillon, auf einfacher Karotte oder Glycerinkarotte und manchmal auch auf Glycerinagar.

Die Sporen bilden sich im allgemeinen in den Kulturböden einige Zeit nach der Aussaat; es ist mir noch nicht möglich gewesen, diese Zeit genau zu bestimmen, doch kann die Sporenbildung zuweilen schon nach wenigen Tagen erfolgen.

Auf Glycerinkarotte habe ich ihre Anwesenheit nach nur 6-tägiger Entwicklung bei 35° konstatieren können, während ich sie in den verschiedenen Bouillons nie vor 20—30 Tagen antraf.

Wie ich an anderer Stelle erwähnt habe, ist es trotz Anwesenheit der filamentösen Formen nicht in sämtlichen Kulturen möglich, die Sporenelemente aufzufinden: Ein Teil der Reagensgläser mit demselben Nährsubstrat bleiben, trotzdem sie in annähernd identischen Verhältnissen gehalten werden, ohne Sporenbildung.

Die Menge der auffindbaren Sporen steht im Verhältnis zum Alter der Kultur: in den ziemlich jungen sind die Sporenformen äußerst spärlich, in den bereits mehrere Monate alten sind sie am reichlichsten. In allen Fällen jedoch erreichen sie nie eine hohe Zahl.

Morphologische Eigenschaften.

Die Sporenformen sind von mir sowohl bei der Untersuchung in frischem Zustande wie auch an den mit verschiedenen Färbungsverfahren behandelten Präparaten beobachtet worden.

Bei den Untersuchungen im frischen Zustand werden inmitten von mehr oder weniger verwickelten Gewirren von kontinuierlichen oder unterbrochenen, gleichförmigen oder verschieden dicken Fäden kleine spindelförmige oder abgerundete auf dem Verlauf der Fäden selbst liegende Massen bemerkt, die ohne große Schwierigkeit durch ihre ziemlich ausgesprochene Refraktion erkannt werden.

Ihre Größe übertrifft stets die Dicke der sie tragenden Fäden, so daß sie wie mehr oder weniger voluminöse Anschwellungen der Fäden selbst erscheinen.

Die Struktur ist gegeben durch eine äußere Hülle und einen Inhalt, der zuweilen hyalin sein kann, meistens körnig und lichtbrechend ist und sich in einigen Elementen in einem Teil der Spore verdichtet zeigt.

Sie weisen kein inneres Septum auf und sind vollkommen farblos.

Andere Male zeigen sich diese Sporenformen vollständig inmitten der Fäden isoliert. Dann sind sie meistens rund. Auch diese bestehen aus einer Kontur und einem lichtbrechenden körnigen Inhalt.

In den Präparaten im frischen Zustand ist es möglich, sämtliche Uebergangsformen der Sporenbildungen von der Verdickung des Fadens bis zu den freien Sporen zu beobachten.

An den gefärbten Präparaten verhalten sich die Sporen den Farbstoffen gegenüber ungefähr wie die betreffenden Filamente.

Im allgemeinen muß zur Erzielung guter Präparate zu den Beizlösungen gegriffen werden, deren Anwendung unter gelindem Erwärmen geschieht.

Die verdünnte Ziehlsche Karbolfuchsinlösung und Karbolkristallviolett haben mir gute Resultate gegeben; diese Lösungen färben die Sporenformen mit derselben Leichtigkeit wie die Fäden.

Für die Struktur habe ich das Ehrlichsche Säurehämatoxylin und die Chromatinlösungen verwendet: letztere, und zwar besonders die Giemsa'sche, verbunden mit der Fixierung in Kaliumbichromat-Sublimat-Essigsäure, haben mir die besten Präparate gegeben.

An den gefärbten Präparaten zeigen sich die Sporen des *B. mallei* entweder auf dem Verlauf der Fäden (Taf. I, Fig. 6, 7), oder vollständig frei (Fig. 8). Im ersten Fall haben sie eine Form, die von der länglich spindelartigen zur ovalen und runden geht; im zweiten Fall zeigen sie sich fast stets abgerundet.

Ihre Dimensionen sind etwas variabel: die runden haben im allgemeinen einen Durchmesser, der 2–4 μ betragen kann. Die ovalen zeigen eine Länge von 4–8 μ bei einer Breite von 2–4 μ .

Für die nähere Beschreibung dieser Sporenformen werde ich dem mutmaßlichen Entwicklungsprozeß der Formen selbst folgen.

Längs des Verlaufes eines Fadens und im allgemeinen auf den reichsten an Kernsubstanzen bildet sich eine nicht scharf begrenzte und mehr oder weniger ausgeprägte Verdickung, die an jener Stelle dem Faden selbst ein spindelförmiges Aussehen verleiht (Taf. I, Fig. 6; Taf. II, Fig. 34). Diese ca. 1–1,5 μ breite und mehrere Mikra lange Verdickung färbt sich ziemlich intensiv und läßt keine Struktureigentümlichkeiten sehen.

Die Spindelform verkürzt sich, unter immer stärkerer Anschwellung im Zentrum, häufig in ihrer Länge; in diesem Moment nimmt die spezielle Bildung ganz das Aussehen einer Chlamydospore an (Taf. I, Fig. 6; Taf. II, Fig. 35, 36).

Allmählich rarefiziert der Kerninhalt des Mutterfadens in der Nähe der Spore und es scheint, als ob er sich in der Spore selbst ansammle und verdichte. Diese nimmt immer mehr in ihrem Querdurchmesser zu und strebt rund zu werden (Taf. II, Fig. 38). Der Trägerfaden degeneriert alsdann, verdünnt sich, wird immer mehr farblos und zerfällt endlich in Stücke (Taf. I, Fig. 7; Taf. II, Fig. 38, 39, 41). Die Spore zeigt sich alsdann mit kleinen polaren Anhängen oder, nach Verlust auch dieser, vollkommen frei (Taf. I, Fig. 8; Taf. II, Fig. 43, 44).

Die Spore entwickelt sich im großen und ganzen symmetrisch zu dem Faden; zuweilen jedoch sproßt sie nur auf der einen Seite hervor und nimmt alsdann das Aussehen eines Buckels an (Taf. II, Fig. 39).

Die Entwicklung erfolgt im allgemeinen, wie ich an anderer Stelle erwähnt habe, auf dem Verlauf des Fadens gegen den medianen Teil, und zwar wahrscheinlich in dem an Nähr- und Reservematerial reichsten Abschnitt. Zuweilen jedoch scheint die Entwicklung an einem Ende der filamentösen Form zu erfolgen, der sie ein keulenartiges Aussehen verleiht (Taf. II, Fig. 40, 42). In der Hinsicht muß ich bemerken, daß nicht selten diese apikalen Gebilde falsch oder simuliert sein können, da verschiedene derselben von den gewöhnlichen mittelständigen abstammen, bei denen einer der beiden Teile des Trägerfadens vorzeitig abgestoßen worden ist.

Im allgemeinen bildet sich an demselben Faden nur eine Spore. Immerhin habe ich bisweilen auch zwei beobachten können (Taf. II, Fig. 37). In diesem Fall können die Entwicklungen unabhängig voneinander vor sich gehen oder aber aus derselben spindelförmigen Verdickung hervorgehen. Im Zentrum derselben entsteht alsdann eine leichte Einschnürung, die sich immer mehr ausprägt, während die beiden Sporen sich in ihrem Querdurchmesser vergrößern. Bei ihrer vollständigen Reife angelangt, lösen sie sich unter Degeneration des Mutterfadens von diesem los und trennen sich dann voneinander.

Was die innerste Struktur der Sporen anbelangt, so lassen sowohl das karbolsaure Kristallviolett wie das Ziehlsche Karbolfuchsin, auch in Verdünnung, recht wenig ihre Struktureigentümlichkeiten erkennen, da sie sie in Masse ohne große Differenzierung färben. Bessere Resultate werden mit den Chromatinlösungen erhalten. In der Hinsicht habe ich auch hier mit gutem Erfolg meine Fixierungsflüssigkeit Kaliumbichromat-Sublimat-Eisessig verwendet, an die eine reichliche Abspülung zunächst in Wasser und dann in Jodalkohol zur Ausscheidung der letzten Spuren von Sublimat und Essigsäure angeschlossen wird. Auf diese Fixierung folgt das Färbungsbad, bestehend aus der mit destilliertem Wasser im Verhältnis von 1:20—30 verdünnten Giemsa'schen Lösung. Die Färbung erfolgt normalerweise in ca. 12 Stunden.

Bei dieser Behandlung zeigen sich sowohl die Sporen auf den Fäden wie die isolierten Sporen ziemlich differenziert.

In den gut gelungenen Präparaten zeigen sie sich hauptsächlich gebildet durch eine ziemlich intensiv violett gefärbte Masse, die sämtliche Eigenschaften der Kern- oder Chromatinsubstanz besitzt und mehr oder weniger in dem Rest des Sporenmaterials enthalten ist, der eine ziemlich helle Lilafärbung annimmt.

Die Kernsubstanz kann zuweilen in der ganzen Spore verteilt sein; andere Male zeigt sie sich in einem Teil derselben verdichtet und nimmt eine Seite oder die Peripherie ein, wobei sie sich in letzterem Fall sichel- oder ringförmig anordnet.

In der Sporenmasse, und zwar besonders in dem schwach gefärbten Teil werden häufig zahlreiche kleine Vakuolen wahrgenommen, die sich als helle rundliche Punkte zeigen (Taf. I, Fig. 6).

Sowohl in den nach Giemsa behandelten wie in den mit Fuchsin oder Violett gefärbten Präparaten werden, wenn das Material aus alten Kulturen stammt, häufig Sporenformen bemerkt, die sich unvollkommen färben, während andere teilweise ungefärbt und vakuolisiert bleiben. Ein derartiges Verhalten dieser Elemente gegenüber den Farbreaktionen muß zweifellos durch besondere Modifikationen bedingt sein, die in diesen Reproduktionsorganen durch das Alter eintreten.

Sporenhaltige, in der Wärme mit Ziehlschem Karbolfuchsin gefärbte Präparate verlieren bei Behandlung mit auch leicht sauren Lösungen ohne große Schwierigkeit die Farbe. Sie sind somit nicht säurefest. Dasselbe läßt sich von der Alkoholbeständigkeit sagen.

Nach Gram behandelte Präparate entfärben sich wie die gewöhnlichen Bakterienformen des *B. mallei*. Die Sporenformen jedoch bedürfen hierzu einer längeren Waschung in Alkohol.

Betrachtungen über die Sporenformen.

Durch diese meine Beobachtungen ist sichergestellt, daß der Erreger der Rotzkrankheit Resistenzorgane erzeugt, die sämtliche Eigenschaften

einiger Exosporen der Hyphomyceten, und zwar genauer der Chlamydosporen besitzen.

Diese bei dem Mikroorganismus der Kulturen konstatierte Tatsache führt uns zu der Annahme, daß das gleiche auch in den pathologischen Rotzprodukten eintreten kann, wenn diese nach Ausscheidung aus dem erkrankten Tiere und Zerstreuung in der Umgebung in geeignete Verhältnisse für die Entwicklung der Sporenformen selbst kommen.

Dieser besondere Sachverhalt würde alle die Schwierigkeiten erklären, auf die man häufig bei der Gesundung von Milieus, in denen Rotzfälle vorgekommen sind, stößt. Noch jetzt können wir ziemlich häufig konstatieren, wie in Stallungen oder überhaupt in Unterkunftsstätten für Pferde, in denen sich früher die Rotzinfektion entwickelt, von Zeit zu Zeit trotz der mehr oder weniger rigorösen sanitätspolizeilichen Maßnahmen neue Fälle wiederkehren. Diese Tatsache stand sicher nicht in Einklang mit den gemeinhin herrschenden Ansichten über die geringe Widerstandsfähigkeit des Rotzvirus. Einige Autoren, unter ihnen Löffler, Nocard, Trasbot usw. erklärten das durch die Vermutung, daß das Fortbestehen der Infektion in einem Milieu unterhalten würde durch die Anwesenheit von Tieren mit chronischem latentem Rotz an dem Ort selbst, bei denen die Infektion unbeobachtet bleiben konnte, während die nämlichen Tiere doch echte Infektionsquellen abgaben.

Diese Erscheinung, die zuweilen wirklich konstatiert wurde, konnte zwar vor einiger Zeit vorkommen, kann aber heute dank der zu unserer Verfügung stehenden diagnostischen Hilfsmittel, durch die die Rotzkrankheit in ihrem Beginn und in ihrer Latenz aufgedeckt werden kann, kaum noch eintreten; und dennoch beobachten wir noch immer neue Rotzfälle in Räumen, wo früher solche vorgekommen waren!

Nehmen wir dagegen in den pathologischen Rotzprodukten die Entwicklung dieser Sporenelemente an, die sodann die Dauer- oder Resistenzformen sind, so können wir den wahren Grund der Schwierigkeiten, auf die in der Praxis die Durchführung der vollständigen Desinfektion der rotzinfizierten Unterkunftsstätten stößt, uns besser klar machen.

Unter welchen Bedingungen erfolgt die Bildung dieser Sporenformen? Wie ich eingangs dieses Abschnittes dargelegt habe, sind sie nicht in sämtlichen gewöhnlich für den *B. mallei* verwendeten Kultursubstraten aufgefunden worden und in den positiven Fällen nicht in sämtlichen denselben Boden enthaltenden Reagensgläsern. In der Hinsicht muß ich hinzufügen, daß auch die filamentösen Formen des Rotzerregers sich oft aus noch unbekannten Ursachen unter Rückkehr zur gewöhnlichen Bakterienform reproduzieren. Im allgemeinen genügen bei den pleomorphen Mikroorganismen zuweilen leichte Variationen der Entwicklungsbedingungen, um morphologische Aenderungen von einer gewissen Bedeutung zu erhalten.

Unzweifelhaft muß bei der Sporenbildung des in Rede stehenden Mikroparasiten die Beschaffenheit des Kulturbodens, seine Reaktion, der Feuchtigkeitsgrad, die Entwicklungstemperatur, das Licht, das Wachstum an der Luft oder innerhalb von Flüssigkeiten, der Abschluß der Reagensgläser, das Alter der Kultur und viele andere uns entgehende Faktoren von Einfluß sein.

Die Erkenntnis, unter welchen Bedingungen der Rotzerreger diese Dauerformen erzeugt, wäre von großer Wichtigkeit namentlich durch den großen Vorteil, der der diesbezüglichen Prophylaxe daraus erwachsen würde.

Systematik des *B. mallei*.

Welcher Platz ist in der Systematik der pathogenen Mikroorganismen dem Erreger der Rotzkrankheit zuzuweisen?

Lange Zeit hindurch wurde nach der Entdeckung von Loeffler und Schütz dieses Bakterium als ein Spaltpilz betrachtet. Durch die späteren Beobachtungen und vor allem durch den Nachweis der filamentösen und keulenartigen Formen in den Kulturböden konnte seine Stellung in der Ordnung, der es zugewiesen war, nicht mehr aufrecht erhalten werden. In der Tat rückte es Galli-Valerio nach seinen Untersuchungen den Streptothricheen an die Seite, einer Gruppe, die in der Mitte steht zwischen Schizomyceten und Hyphomyceten, Lehmann und Neumann betrachten es als ein Corynebakterium und rechneten es daher zu den Aktinomyceten, während Conradi, unter Auffassung der keulenartigen Formen als Reproduktionsorgane, denselben Erreger zu den Hyphomyceten rechnete.

Aus meinen Beobachtungen glaube ich, da ich bei diesem Bakterium einige mit den Hyphomyceten gemeinsame Charaktere konstatiert und die Anwesenheit von Verzweigungen vermißt habe, den Erreger der Rotzkrankheit in jene Gruppe von Mikroorganismen stellen zu müssen, die unter dem Namen Petruschkysche Trichomyceten, Fischersche Trichobakterien oder Cohnsche polymorphe Bakterien geht.

Die Stellung dieser Gruppe ist klar beschrieben von Petruschky in dem Aufsatz „Die pathogenen Trichomyceten“ im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Er gibt folgendes Schema:

folgendes Schema		Ordnungen :	
A.			B.
Hyphomyceten			Schizomyceten
deren			
Familien			
I. Höhere Schimmelpilze.		II. Haarpilze	
		Trichomyceten	
		deren	
		Species	
1) Actinomyces, 2) Streptothrix, 3) Cladotrix, 4) Leptothrix			

Die Trichomyceten würden daher eine Familie zwischen den höheren Hyphomyceten und den Schizomyceten bilden. Von diesen Trichomyceten werden 4 Arten unterschieden, die Actinomyces, ausgezeichnet durch die Anwesenheit von Verzweigungen und eines Mycelium mit Sporenkörnchen; Streptothrix, welche Verzweigungen besitzt und bei der häufig Fäden mit Konidien bemerkt werden; Cladotrix, die falsche Verzweigungen und Fäden mit Scheiden besitzt; Leptothrix, die keine Verzweigungen und Scheiden hat.

Die beiden letzten Arten gehen unter dem Namen höhere Schizomyceten (Lehmann und Neumann) wegen der großen Verwandtschaft, die sie zu den Mikroorganismen dieser Ordnung besitzen.

Der *B. mallei* würde nach den Resultaten meiner Beobachtungen zu Leptothrix der oben angegebenen Klassifikation gehören. Diese ist in der Tat durch 0,5—1,5 μ breite und mehr oder weniger lange filamentöse Formen charakterisiert, an denen ein nicht wachsendes und häufig fix bleibendes basales Ende und ein frei wachsendes apikales Ende, das oft eine größere Breite hat, unterschieden werden kann. Diese

Fäden können sich in kurze Stücke segmentieren, die verbunden bleiben oder sich isolieren. Außerdem sind keine Verzweigungen und Scheiden vorhanden, alles Eigenschaften, die wir bei dem Erreger der Rotzkrankheit antreffen.

Allgemeine Schlüsse.

Aus dem besprochenen Studium des *B. mallei* kann ich folgende Schlüsse ableiten:

1) Der Erreger der Rotzkrankheit ist mit großer Variabilität in seinen morphologischen Eigenschaften ausgestattet (Pleomorphismus). Außer in den gewöhnlichen gemeinhin bekannten Formen kann er sich in den Kulturen in Gestalt von mehr oder weniger langen Fäden von gleichmäßiger oder variabler Dicke mit häufig spindel- oder keulenförmigen Enden zeigen.

Diese Fäden, die im allgemeinen für Involutionsstadien des Rotzbacillus gehalten werden, sind vielmehr wahre aktive, kultivierbare und übertragbare und wahrscheinlich mit einem hohen pathogenen Vermögen ausgestattete Formen.

2) In der Tat können dieselben durch Einimpfungen der betreffenden Kulturen auf das Meerschweinchen übertragen werden. In der Rotzsarkozele dieser Tiere werden dann gefunden: Granuläre Formen, einfache bacilläre Formen, solche in Reproduktion begriffene, gepaart, zu Haufen oder Bündelchen vereint; schließlich filamentöse Formen von verschiedener Länge und Dicke, spindelförmige und keulenartige Elemente.

3) Die innerste Struktur dieser Formen besteht, nach mit Chromatinlösungen gefärbten Präparaten, aus einer Protoplasma-masse, die im allgemeinen dem Mikroorganismus die Form gibt und in der Vakuolen und große Körner von Chromatinsubstanz bemerkt werden.

Letztere sind als echte Kerne zu betrachten, und zwar sowohl weil sie der Zellteilung vorstehen wie wegen ihrer besonderen mikrochemischen Reaktionen gegen bestimmte Farbstoffe.

4) Sämtliche in den pathologischen Rotzprodukten angetroffenen Parasitenformen sind mit einer Kapsel versehen. Diese läßt sich nachweisen durch Fixierung der Ausstrichpräparate mit der angegebenen Lösung von Sublimat-Kaliumbichromat-Essigsäure oder mit Osmium-Essigsäuredämpfen und darauffolgender Färbung mit Ziehlschem Karbolfuchsin.

5) In den pathologischen Läsionen der Rotzkrankheit werden besondere Zellen von epitheloider Natur angetroffen, die in ihrem Protoplasma mehr oder weniger zahlreiche und in ihrer Morphologie variable Bakterienelemente einschließen, die darin ihren vitalen Zustand vollständig bewahren.

Diese Zellen, die ich als Rotzzellen bezeichnet habe, sind als Ausdruck eines echten Parasitismus und nicht als Phagocytoseerscheinungen zu betrachten.

6) Unter besonderen, großenteils noch unbekannten Bedingungen ist der *B. mallei* in Gestalt der filamentösen Formen befähigt, in verschiedenen Kulturböden besondere Elemente mit sämtlichen Eigenschaften der Exosporen der Schimmelpilze und genauer der Chlamydosporen zu erzeugen. Diese Sporenbildungen sichern den Kulturen selbst eine lange Vitalität.

7) In den verschiedenen mit dem genannten, an Fäden reichen Material ausgeführten Kulturen wie auch bei den verschiedentlichen Untersuchungen von filamentöse Formen enthaltenden Präparaten aus rotzkranken Organen ist es mir nie gelungen, echte Verzweigungen zu beobachten.

Der *B. mallei* kann somit nicht zu den Streptothricen und um so weniger zu den Aktinomyceten gehören. Obwohl er durch seine speziellen Charaktere zur Familie der Trichomyceten zählt, wäre er der Art *Leptothrix* zuzuweisen, d. h. jener Gruppe von Mikroorganismen ohne Verzweigungen, die den Schizomyceten am nächsten kommt.

Rom, Juni 1913.

Literatur.

- Baumgarten, Zur Frage der Sporenbildung bei Rotzbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1888.)
 Bonome u. Vivaldi, Ueber die spezifische Wirkung einiger Substanzen. (Dtsche med. Wochenschr. 1892.)
 Bonome, Alcune proprietà biologiche del bacillo della morva. (Riforma med. 1894.)
 Carpano, Contributo alla conoscenza del *B. mallei*. (Moderno Zoiatro. 1912.)
 —, Forme sporali dell'agente etiologico della morva. (Clinica Veterinaria. 1913.)
 Celli, Manuale dell'Igienista. 1912.
 Conradi, Die Hyphomycetennatur des Rotzbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. 1900.)
 Galli-Valerio, Contribution à l'étude de la morphologie du *B. mallei*. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899.)
 —, Seconde contribution à l'étude du *B. mallei*. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900.)
 Huttyra u. Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 1909.
 Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. 1903.
 Krajewsky, Zur Morphologie des *B. mallei*. (Bote f. Veterinärwesen. 1899.)
 Kranzfeld, Zur Kenntnis des Rotzbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1887.)
 Lehmann e Neumann, Compendio di Batteriologia. 1910.
 Levy, Ueber die Actinomyces-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899.)
 Loeffler u. Schütz, Dtsche med. Wochenschr. 1882.
 Loeffler, Die Aetiologie des Rotzbacillus. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1886.)
 Macé, Traité pratique de Bactériologie. 1912.
 Marx, Zur Morphologie des Rotzbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899.)
 Meyer, Zur Kenntnis des Rotzbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899.)
 Noniewicz, Ueber die innere Konstruktion des *B. diphtheriae* und des *B. mallei*. (Zeitschr. f. Tiermed. 1890.)
 Oreste, Malattie infettive degli animali domestici. 1910.
 Semmer, Ueber die Morphologie des Rotzbacillus. (Zeitschr. f. Tiermed. 1895.)
 Weichselbaum, Kasuistische Beiträge der Rotzkrankheit. (Int. klin. Rundsch. 1888.)

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Reproduktion von Mikrophotographien des Verfassers. Apochrom. Obj. 2 mm Koristka und Projektionsokular No. 4. Durchgehends 1300-fache Vergrößerung.

Fig. 1. *B. mallei* aus 2-tägiger Glyzerinagarkultur, Färbung mit der Giemsa-schen Lösung: Bakterienformen, von denen die Kernteile (Chromatin) intensiv gefärbt sind.

Fig. 2. *B. mallei* aus 6-tägiger Glyzerinagarkultur, Färbung mit Ziehlschem Karbolfuchsin: Gewöhnliche Bakterienformen und einige Filamente.

Fig. 3. *B. mallei* aus 6-tägiger Kartoffelkultur, Färbung mit Ziehlschem Karbolfuchsin: Längliche Formen vom Aussehen des Diphtheriebacillus.

Fig. 4. *B. mallei* aus 1-tägiger Glyzerinbouillonkultur bei 37° C, die darauf 12 Stunden lang bei 42° C gehalten wurde. Färbung mit Ziehlschem Karbolfuchsin: Involutionsformen.

Fig. 5. *B. mallei* aus 2-tägiger Glyzerinagarkultur, Färbung mit Karbolfuchsin: Wenige Bakterienformen und verschlungene, keulenförmig endigende Fäden.

Fig. 6. *B. mallei* aus 60-tägiger Glyzerin-Kartoffel-Bouillonkultur. Färbung mit karbolsaurem Kristallviolett: Filamentöse Formen und Sporenformen von spindelartigem Aussehen.

Fig. 7. *B. mallei* aus 60-tägiger Glyzerin-Kartoffel-Bouillonkultur. Färbung mit karbolsaurem Kristallviolett: Filamentöse Formen mit Spore, die im Begriff ist, sich von dem betreffenden Faden loszulösen.

U of I

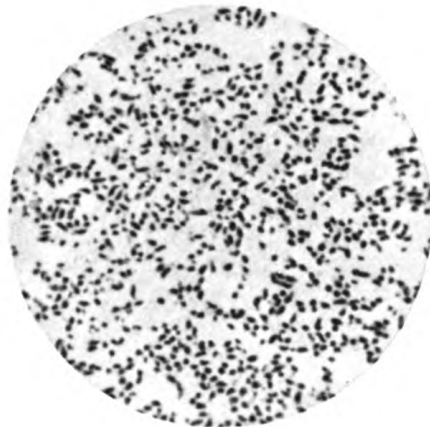


Fig. 1.

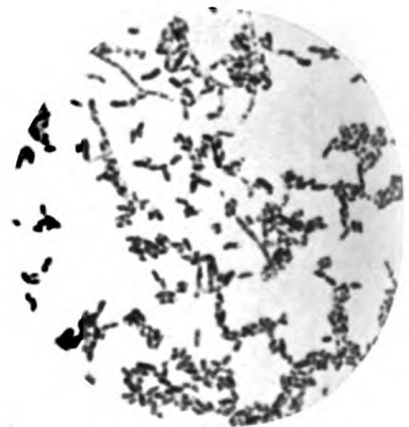


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

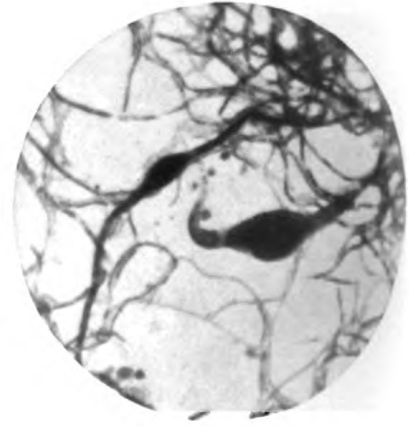


Fig. 6.

Verlag von Gu

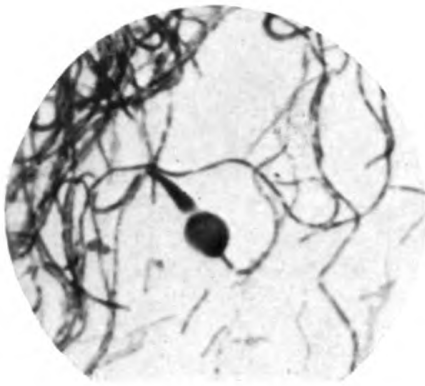


Fig. 7.



Fig. 8.

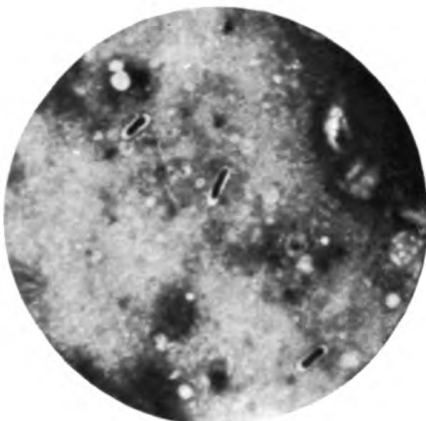


Fig. 9.



Fig. 10.

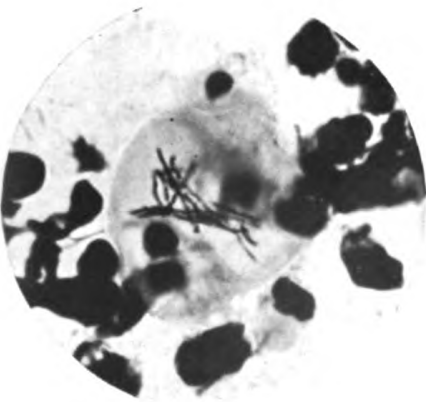


Fig. 11.

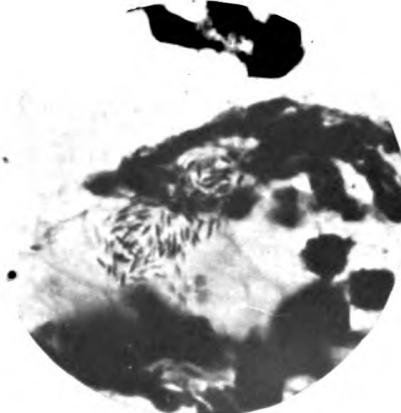
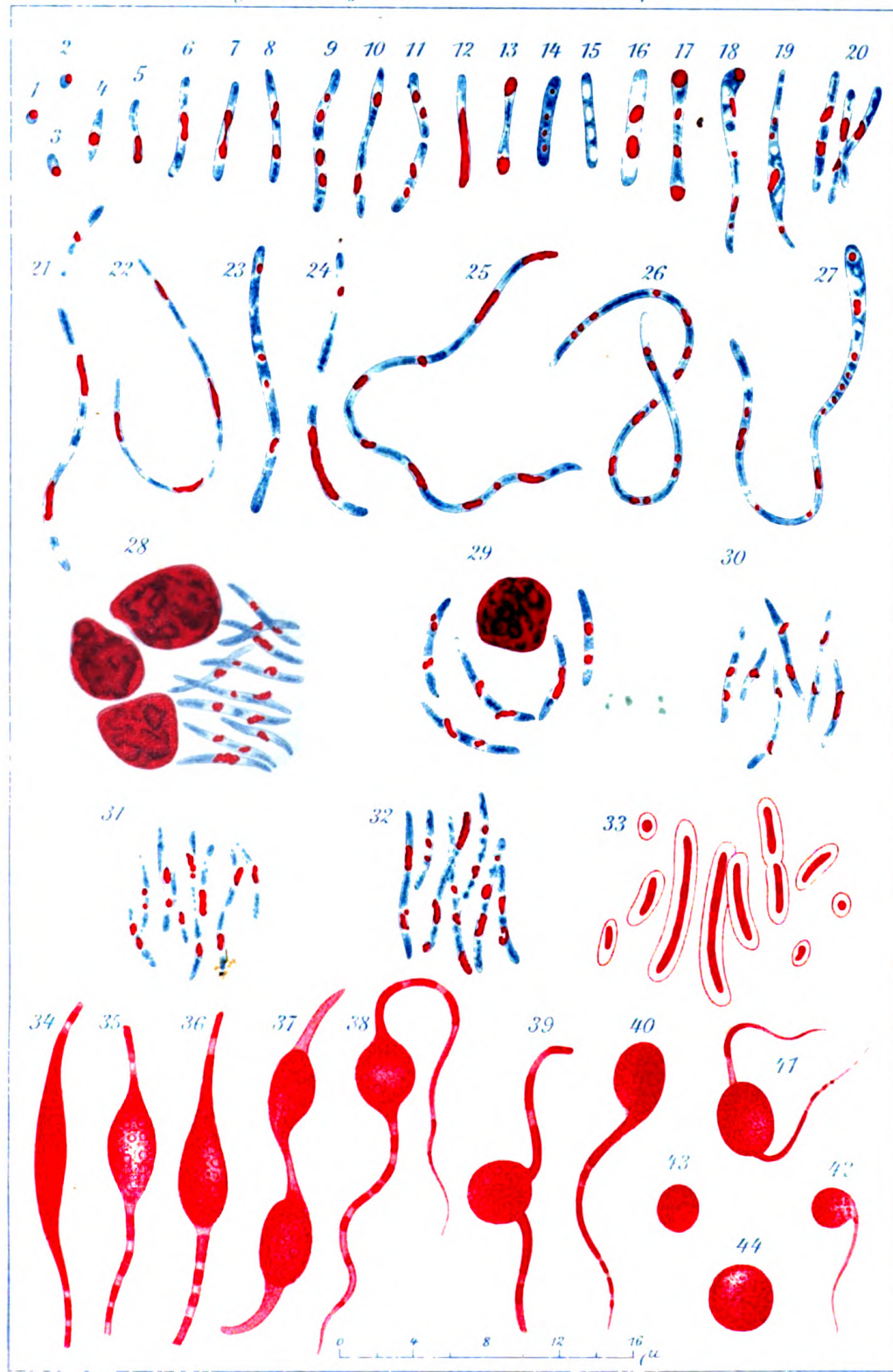


Fig. 12.

cher in Jena.

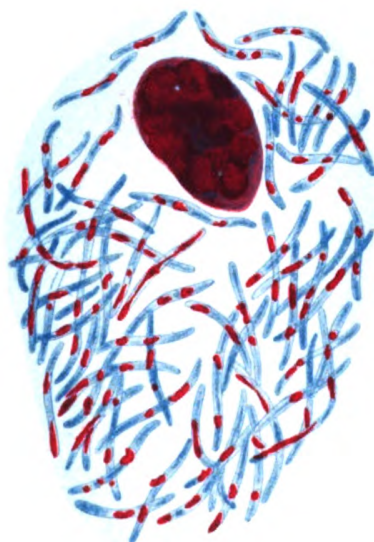
U of I



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

2. Weite 10. 10. 10. 10.

22 4



0 4 8 12 16 20 μ

Dr. M. Carpano d. S.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

F. Weise, Lith. Jena.

Fig. 8. *B. mallei* aus 90-tägiger Glycerin-Karottenkultur. Färbung mit Ziehl-schem Karbolfuchsin: Zerstückelte filamentöse Formen mit einer vollkommen isolierten Spore.

Fig. 9. *B. mallei* aus dem eitrigen Exsudat der Rotzsarkozele des Meerschweinchens. Fixierung mit Sublimat-Kaliumbichromat-Essigsäurelösung und Färbung mit Karbolfuchsin: Von einer Kapsel umgebene bacilläre Elemente.

Fig. 10. *B. mallei* aus dem eitrigen Exsudat der Rotzsarkozele eines 4 Tage nach der intraperitonealen Einimpfung verendeten Meerschweinchens. Färbung mit Giemsa'scher Lösung: Kleine kernlose, mit filamentösen Formen angefüllte Zelle.

Fig. 11. *B. mallei* aus Knötchen der Rotzsarkozele eines 3 Tage nach der intraperitonealen Einimpfung filamentöse Formen enthaltender Kulturen verendeten Meerschweinchens. Färbung mit Giemsa'scher Lösung: Große, ovale, gekernte Zelle von lymphoider Natur mit falsch verzweigten filamentösen Elementen.

Fig. 12. *B. mallei* aus Rotzknötchen eines 80 Stunden nach der intraperitonealen Impfung verendeten Meerschweinchens. Färbung mit Giemsa'scher Lösung: Bakterienhaufen, herrührend aus einer großen ovalen Zelle, von der sich die Ueberreste erkennen lassen.

Tafel II.

Fig. 1—33. Reproduktion von Präparaten aus eitrigen Exsudat und Rotzknötchen von männlichen Meerschweinchen, die intraperitoneal mit an filamentösen Formen reichen Kulturen geimpft worden waren. Färbung mit Giemsa'scher Lösung und Karbolfuchsin nach Fixierung mit der Sublimat-Kaliumbichromat-Essigsäuremischung.

Fig. 34—44. Reproduktion von Präparaten aus Kulturen auf verschiedenen Böden und von verschiedenem Alter. Färbung mit Karbolfuchsin.

Die Reproduktionen sind direkt unter dem Mikroskop unter Benutzung des apochrom. Obj. 3 mm und des Komp.-Ok. 12 gemacht worden. Die Vergrößerung ist durch die untenstehende Skala in μ gegeben.

Fig. 1—5. Kleine Formen.

Fig. 6—20. Verschiedene mittlere Formen (6—7 in Reproduktion begriffen; 8—9 Formen mit geteilten Kernen; 10—11 gepaarte Formen; 12 Form mit stäbchenartigem Kern; 13 u. 17 hantelartige Formen; 15 kernlose Form; 16 verdickte Form; 18 keulenartige Form; 19 spindelartige Form; 20 zu Bündelchen vereinigte Formen).

Fig. 21—27. Lange oder filamentöse Formen.

Fig. 28—31. Intracelluläre Formen.

Fig. 32. Aus der Zellauflösung sich herleitende bakterielle Elemente in Haufen oder Bündelchen.

Fig. 33. Bakterien von verschiedenartiger Form mit Kapsel.

Fig. 34—36. Spindelartige Formen auf verschiedenem Grad der Entwicklung.

Fig. 37. Doppelte Sporenformen an demselben Faden.

Fig. 38, 39 u. 41. Rundliche Sporenformen im Begriff sich loszulösen.

Fig. 40 u. 42. Einseitig isolierte Formen in Gestalt einer Keule und eines Glockenklöppels.

Fig. 43—44. Vollständig isolierte Sporenformen.

Tafel III.

Reproduktion von Ausstrichpräparaten aus Rotzknötchen. Fixierung mit der Sublimat-Kaliumbichromat-Essigsäuremischung und Färbung mit Giemsa'scher Lösung.

Fig. 1. Große Zelle von lymphoider Natur, angefüllt mit kleinen zu Gruppen und Palisaden angeordneten bakteriellen Elementen.

Fig. 2. Große, ovale Zelle mit 2 Kernen, die unregelmäßig angeordnete und Verzweigungen vortäuschende filamentöse Formen enthält.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über die Pseudolyssa.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Parma.]

Von Prof. Dr. **E. Bertarelli** und Dr. **C. Melli**.

Unter Pseudolyssa versteht man eine zum ersten Mal 1902 von Aujeszký beschriebene und nachher von verschiedenen Forschern studierte Infektionskrankheit. In der kürzlich erschienenen Arbeit von Zwick und Zeller¹⁾ ist die geringe, bis dahin bekannt gewordene Literatur und alles das zusammengefaßt, was über diese sonderbare Krankheit hat festgestellt werden können.

Allen denen, die diese Krankheitsform nicht näher kennen, mögen hier einige Angaben über die Krankheit selbst genügen. In der Natur wurde dieses Leiden ganz bestimmt bei der Kuh beobachtet, nach einigen Forschern auch beim Hund und bei der Katze. Experimentell lassen sich damit Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Schaf usw. anstecken. Das zur Versuchsarbeit bevorzugte Tier ist das Kaninchen, bei dem auch die subkutane Einspritzung des Virus ganz bestimmt gelingt, im übrigen aber auch die subdurale, endoperitoneale und endookulare Infektion sehr gut ausgefallen ist.

Die Erscheinungen der Pseudolyssa erinnern in mancher Hinsicht an die der Wutkrankheit. Bezüglich der Einzelheiten dieses Krankheitsbildes verweisen wir auf die angeführte Arbeit, in der jeder Forscher alles finden wird, was ihn interessieren kann. Hier mag es genügen, daran zu erinnern, daß die Inkubationsdauer kurz ist und daß nach 28 oder 36 Stunden die ersten Krankheitserscheinungen auftreten, die in Speichelfluß, starkem Jucken an den Hinterbeinen und beginnender Paralyse bestehen, welche letztere in kurzer Zeit das ganze Tier erfaßt; der Tod des Tieres tritt gewöhnlich 3 oder 4, zuweilen aber auch schon 2 Tage nach der Inokulation ein.

Zwick und Zeller hatten Gelegenheit, einige Lokalisationen des Virus in den Geweben, die Widerstandsfähigkeit des Virus den verschiedenen Einwirkungsmitteln gegenüber und die Filtrierbarkeit des Virus durch Kerzen zu studieren, wobei sie zu dem Ergebnis gelangt sind, daß das Virus durch Berkefeldtkerzen nicht filtrierbar ist.

Wir verdanken es der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. Carini, vom Pasteurschen Institut in San Paulo (Brasilien), daß wir über ein in Glycerin aufbewahrtes Virus verfügen konnten, das Fällen von Pseudolyssa entammt, die unter den Kühen Südamerikas von Carini selbst beobachtet worden sind²⁾.

Wir haben es für nützlich gehalten, Untersuchungen zur Aufklärung einiger noch nicht bekannter und bestrittener Punkte dieser Krankheit anzustellen. Dagegen haben wir alles beiseite gelassen, was sich auf die von den wenigen Verfassern (die sich mit dieser Krankheit beschäftigt haben) festgestellten Krankheitserscheinungen bezieht.

Unsere Untersuchungen haben sich zur Aufgabe gestellt, nachzuforschen:

1) Zwick und Zeller, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 36. 1911.

2) Carini, A., und Macioli, I., Bull. Soc. path. exot. 1912.

1) Ob das Virus filtrierbar ist oder nicht (wir haben bereits darauf hingewiesen, daß es nach Zwick und Zeller durch Berkefeld-Kerzen nicht filtrierbar ist;

2) ob die peripherischen Nerven infizierend sind und demnach bei der Pseudolyssa dieselbe Erscheinung zutage tritt, die bei der Wutkrankheit wahrgenommen werden konnte;

3) ob das Virus der Pseudolyssa längs der Nerven vordringen kann, wie dies bei der Wutkrankheit beobachtet worden ist;

4) ob in den Nervenzellen des Zentralnervensystems und der Spinalganglien gelegentlich Einschlüßkörperchen beobachtet werden, die in irgendeiner Weise mit den bei der Wut gesehenen verglichen werden können.

Von all diesen Punkten ist, soweit uns bekannt, bis jetzt nur der erste eingehender untersucht worden, während die anderen drei für vollständig neu gelten können.

Filtrierung des Virus: Wir haben bereits darauf hingewiesen, daß von anderen Forschern die Behauptung aufgestellt worden ist, das in Frage stehende Virus sei nicht imstande, durch die Berkefeld-Kerzen hindurchzudringen.

Wir haben diesen Versuch nicht nur deshalb wiederholt, weil das negativ ausgefallene Resultat Anderer auf diesem Gebiet noch nicht viel bedeutet (denn auch das Virus des Trachoms, das Bertarelli als filtrierbar erkannt hat, ist von andern Forschern für nicht filtrierbar gehalten worden, und bei dieser Ansicht wäre es geblieben, wenn nicht im rechten Augenblick auch Nicolle nachgewiesen hätte, daß das Virus des Trachoms wirklich filtrierbar ist), sondern mehr noch deshalb, weil die Ähnlichkeit im Verhalten der Wut und der Pseudolyssa zu deutlich sind, als daß es sich nicht lohnte, über diesen Punkt möglichste Klarheit zu schaffen.

Wir haben uns zum Vergleich der neuen, im Dampf sterilisierten Berkefeldschen Kerzen (Liliput) bedient. Bei den beiden Versuchen, über die wir noch ausführlicher berichten werden, wurde der gute Zustand der Kerze, wie gewöhnlich, mit dem *B. prodigosus* erprobt.

Zur ersten Probe diente Kaninchengehirn, das zur subkutanen Inokulation des Virus in 10 ccm physiologischer Lösung verdünnt worden war; die Filtrierung geschah unter einer Atmosphäre Druck. Ein solcher Druck mag zwar zu derartigen Versuchen in Wirklichkeit etwas hoch erscheinen, doch ist unseres Erachtens bei den Orientierungsversuchen ein ziemlich hoher Druck ratsamer, was nicht ausschließt, daß bei Wiederholung der Versuche ein geringerer Druck angewandt wird und dann diese letzten Ergebnisse in Rechnung gestellt werden.

Die auf die eben angegebene Weise angestellte Untersuchung ist negativ ausgefallen, wenngleich mit dem Filtrat zwei Kaninchen, eines subdural und ein anderes subkutan, geimpft worden sind.

Beim zweiten Versuche haben wir die Versuchsbedingungen etwas abgeändert, ganz besonders in Hinsicht auf die Verdünnung des Virus mit physiologischer Flüssigkeit. Es ist in der Tat etwas Wohlbekanntes, daß der Versuch, das Virus zu filtrieren, infolge des Vorhandenseins überschüssiger Eiweißkörper oft fehlschlägt, weshalb empfohlen wird, zur besseren Sicherung einer etwaigen Filtrierung des virulenten Stoffes die Verdünnung eher zu stark als zu schwach werden zu lassen. Bei unsern Versuchen wurde das Virus zur Mazerierung einige Stunden in physiologischer Lösung belassen, die Aufschwemmung dann stark ver-

dünnt und mit $\frac{3}{4}$ Atmosphären Druck durch die Kerze filtriert. Das Filtrat wurde dann zentrifugiert und recht ausgiebig in das Bauchfell eines Kaninchens eingegeben und außerdem eine gewisse Menge desselben Stoffes unter die Dura mater eines anderen Tieres inokuliert. Beide Versuche haben jedoch zu durchaus negativem Ergebnis geführt.

Nach alledem ist nur geringe Wahrscheinlichkeit dafür vorhanden, daß das Virus der in Frage stehenden Krankheit für filtrierbar gehalten werden darf, selbst wenn wir annehmen, daß die negativen Befunde nicht denselben Wert haben, wie die positiven. Zum mindesten aber geht aus unsern Versuchen hervor, daß wir auch bei Zuhilfenahme erleichternder Kunstgriffe nicht imstande waren, die Filtrierbarkeit des Virus nachzuweisen.

Infektiosität der peripherischen Nerven: Hierüber haben wir in den wenigen über das Virus der Pseudolyssa veröffentlichten Arbeiten keinerlei Angaben gefunden. Wir haben nun bereits darauf hingewiesen, daß es für uns nicht besonders wichtig wäre, zu wissen, ob eine Infektiosität des peripherischen Nervensystems besteht oder nicht, wenn es uns nicht daran gelegen wäre, etwaige Analogien mit der Wutkrankheit festzustellen, die sich bekanntlich zentrifugal und zentrpietal verbreitet und dabei die Nervenbahnen bevorzugt, nicht selten aber auch auf den Blutbahnen um sich greift. Was nun da die Pseudolyssa anbetrifft, so ließe sich einwenden, daß eine Verbreitung auf den Nervenwegen unwahrscheinlich ist, oder doch zum mindesten eine solche Erscheinung deshalb auch dann schwer zu erweisen ist, wenn wir der Bequemlichkeit halber annehmen, daß sie wirklich zu Recht besteht, weil das Virus auf der Blutbahn rasch durch den ganzen Körper zieht, wonach es also logisch erschiene, anzunehmen, daß alle Nerven auf jeden Fall immer infiziert vorgefunden werden müssen, gleichviel ob das Virus auf der Blut- oder Nervenbahn seinen Einzug gehalten hat.

Nun war aber auch noch eine andere Möglichkeit vorhanden, und zwar die, daß unsere Versuche zu Ergebnissen führen konnten, die weit entfernt waren von denen, die eine bequeme aprioristische Logik gestattete; die Tatsachen haben diesem Gedankengang, wie wir sehen werden, auch wirklich beigestimmt.

Am 27. Januar wurde einem unter den typischen Erscheinungen der Pseudolyssa verendeten Kaninchen ein Stück des Ischiadicus entnommen, und dieser zusammen mit physiologischer Lösung in einem Mörser zerknetet. (Das das Stück Hüftnerv abgebende Kaninchen hatte das Virus subkutan injiziert erhalten und war 3 Tage nach der Einspritzung verendet.) Mit der Hüftnervaufschwemmung werden 2 Kaninchen inokuliert: das eine subdural, das andere subkutan. Keines der beiden Tiere verendet an Pseudolyssa.

Wenige Tage später wird die Probe mit dem Hüftnerv eines, wie nachstehend angegeben, in die Nervenbahn injizierten Kaninchens wiederholt (der Hüftnerv war nicht der inokulierten, sondern der ihr entgegengesetzten Seite entnommen worden). Auch so vorgehend war das erhaltene Ergebnis negativ.

Schließlich wurde der Versuch mit dem Hüftnerv eines mit Kaninchenvirus subkutan inokulierten und wenig mehr als 3 Tage nach der Einspritzung verendeten Hundes wiederholt.

Auch dabei war das Ergebnis wiederum negativ.

Wir glauben somit behaupten zu dürfen, daß die peripherischen Nerven (und zum mindesten ganz bestimmt der Hüftnerv) bei der Pseudo-

lyssa nicht infizierend sind. Damit ist im Vergleich mit dem, was bei dem Wutvirus geschieht, dessen Verbreitung längs der peripherischen Nerven von italienischen Forschern klar dargetan worden ist, ein bedeutendes Unterscheidungsmerkmal geschaffen.

Verbreitung des Virus der Pseudolyssa auf der Nervenbahn. Es ist allgemein bekannt, daß das Wutvirus sich längs der Nerven verbreitet. Es geht dies daraus hervor, daß man das Kaninchen experimentell sehr gut mit Wut infizieren kann, wenn man das Virus in den Hüftnerf oder in andere ganz unwichtige Nervenstämme einspritzt. Was die Wut anbelangt, so ist diese Erscheinung sogar zur Diagnose der Wut in den Fällen verwandt worden, in denen Fäulnismaterial zur Verfügung steht, und zwar zumeist mit der drohenden Gefahr, daß das Tier bei subduraler Verimpfung an Hirnhautentzündung zugrunde geht. Freilich können wir in diesen Fällen zur Filtrierung des Virus greifen, die uns der Gefahr enthebt, dem Versuchstier Bakteriaceenformen einzuverleiben, doch ist die Filtrierung eben immer ein umständliches und zeitraubendes Verfahren, zu dem man seine Zuflucht nur sehr ungern nimmt.

Bei der Pseudolyssa konnte die etwaige Verbreitung des Virus längs der Nerven erst dann nachgewiesen werden, wenn festgestellt war, daß die peripherischen Nerven nicht infizierend sind: und die Sache war richtig so.

Der erste Versuch wurde auf folgende Weise vorgenommen: Es wurde der Hüftnerf freigelegt, emporgehoben und zweckentsprechend mit Wattebäuschchen isoliert, dann ließen wir die Nadel der Spritze in die volle Dicke des Nerven eindringen und begnügten uns damit, in den Nerven ungefähr 0,10 ccm Aufschwemmung einzuspritzen. 2 Tage nachher bot das Tier die typischen Merkmale der Pseudolyssa und verendete wenige Stunden später an der Infektion.

Es wurde nun der infizierte Ischiadicus freigelegt, soweit wie möglich hinaufgegangen und dann ein Stück vom Hüftnerf abgetragen, damit in physiologischer Lösung eine Aufschwemmung zubereitet und diese zwei Tieren einverleibt. Beide subkutan geimpfte Kaninchen sind unter den typischen Erscheinungen der Pseudolyssa zugrunde gegangen. Der Vorsicht halber wurde von der Gehirnmasse eines dieser Kaninchen ein anderes Tier inokuliert, das ebenfalls an Pseudolyssa verendete. Es kann somit kein Zweifel mehr darüber herrschen, daß das Virus wirklich in dem abgetragenen Hüftnerf vorhanden war.

Zu derselben Zeit haben wir dann auch wahrgenommen, daß der Hüftnerf des primär mit dem Hüftnerf der infizierten entgegengesetzten Seite geimpften Kaninchens sich nicht virulent erwies.

Der Versuch ließ den Gedanken aufkommen, daß das Virus der Pseudolyssa längs des Hüftnervs — wie dies bei der Wut geschieht — hinaufgestiegen sein könne und sich dann über den ganzen Körper verbreitet habe. Zu einer solchen Annahme war aber der vorgenommene Versuch nicht ausreichend, denn es war auch die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß nach Impfung des Kaninchens in den Ischiadicus die Ansteckung nicht längs des Nerven eingetreten sei, sondern auf der Lymph- oder Blutbahn. In Wirklichkeit hat es sich herausgestellt, daß der geimpfte Hüftnerf auch oberhalb der Impfstelle virulent war, was daran denken ließ, daß es sich da in keinem Fall um das im Augenblick der experimentellen Inokulation eingeführte Virus handeln könne (ein keinesfalls stichhaltiger Gedanke, denn es waren doch 2 Tropfen

Aufschwemmung eingeführt worden, außerdem hatte das Virus Zeit genug gehabt zur Verbreitung, und schließlich war bei der Nachprüfung das Nervenstück in viel physiologischer Lösung verdünnt worden), sondern um eine wahre, wirkliche Vermehrung des eingeführten Virus.

Um uns aber in keiner Weise dem Verdacht auszusetzen, unsere Versuchsergebnisse falsch gedeutet zu haben, sind wir nach Wiederholung der Versuche und entsprechendem positiven Ergebnis zu verschiedenen Nachprüfungen geschritten. So wurde bei einem Kaninchen der untere Teil der Hüftnervs freigelegt, oberhalb dieser Strecke eine Unterbindung des Nervenstammes vorgenommen und daraufhin in den unteren Teil $\frac{1}{10}$ ccm Virusaufschwemmung eingepflegt, wonach das Tier keinerlei Zeichen von Infektion aufwies.

Einem anderen Kaninchen haben wir dieselbe Menge Virus einverleibt und sofort nach der Impfung ein oberhalb der Impfstelle gelegenes Stück Hüftnerv herausgeschnitten, es dabei aber wohlweislich vermieden, das von der Einspritzung betroffene Stück abzutragen. Auch in diesem Fall hat das Tier keine Anzeichen von Infektion gezeigt.

Schließlich haben wir auch noch die denkbar einfachsten Nachprüfungen vorgenommen, d. h. kleine Mengen Virus in die Gesäßgegend verimpft (wobei wir, um nicht auf einen bedeutenden Nervenast zu stoßen, das Muskelgewebe freilegten), und haben so in einem Fall auch wirklich eine Infektion erhalten.

Welcher Schluß kann nun aus alledem gezogen werden? Der strengen Logik folgend kann und muß gesagt werden, daß auch eine kleine Menge Virus in der Gesäßgegend an und für sich, ohne jede Einführung des Virus in die Nervenbahn, zur Infektion führen kann, und also bei den Infektionsversuchen des Ischiadicus immer noch der Verdacht bestehen bleibt, daß die Verbreitung nicht nur den Nerv entlang, sondern überhaupt nicht den Nerv entlang stattgefunden habe, sondern auf anderen Wegen zustande gekommen sei. Trotz alledem aber lassen, auch wenn wir den folgerichtig aus dem Experiment hervorgehenden Verdacht als solchen annehmen, die Versuche einer Abtragung von Hüftnervstücken sowie die nach der Abtragung nicht eingetretene Infektion, die Unterbindungsprobe sowie schließlich die Versuche, die Tiere mit dem eingepflegten Hüftnerv zu inokulieren, stark vermuten, daß die Verbreitung des Virus auch spezifisch auf der Nervenbahn stattfinden könne, wie dies bei der Wut der Fall ist. Immerhin ist es aber auch möglich, daß die Verbreitung auch bei kleinen Virusquantitäten durch andere Gewebe hindurch stattfinde. Es lassen sich daher die in dieser Richtung bei der Wutkrankheit erhaltenen Ergebnisse nicht mit den bei der Pseudolyssa erhaltenen in Einklang bringen.

Zelleinschlüsse und ätiologische Untersuchungen. In dieser Richtung haben wir Untersuchungen nur bei einem Hund vornehmen können, der einer subkutanen Virusinjektion zufolge infiziert worden war. Unsere auf das Ammonshorn, die Gehirnrinde und das Kleinhirn ausgedehnten Nachforschungen haben uns nicht in die Lage versetzt, auch nur einen Zelleinschluß zutage fördern zu können, der in irgendeiner Weise an die Negrischen Körperchen erinnert hätte. Wir wollen damit aber angesichts der geringen Zahl unserer Untersuchungen keineswegs in Abrede stellen, daß etwas derartiges gefunden werden könne, und setzen daher unsere Nachforschungen in dieser Richtung fort.

Wir haben schließlich auch einige ätiologische Nachforschungen nach den gewohnten Verfahren angestellt, wenngleich angesichts der bisher

erhaltenen negativen Ergebnisse keine Aussicht besteht, auf dem Wege der gewohnten Untersuchungen bessere Erfolge zu erreichen. Auf jeden Fall sind die aeroben Kulturen mit dem Blut und der Gehirnpulpa infizierter und schon von Todeserscheinungen betroffener Kaninchen beständig negativ ausgefallen. Dasselbe negative Ergebnis ergab der morphologische Befund. Untersuchungen in Anaerobiose haben wir bis heute noch nicht ausgeführt.

Nachdruck verboten.

Ueber aërobe Mikroorganismen im Psalter und Colon beim Rinde.

Von **Andreas W. Buemann**, Dr. med. vet. in Skive (Dänemark).

Leeuwenhoek (1) hat im Jahre 1719 das Vegetieren von Mikroorganismen in Exkrementen gesunder Menschen festgestellt. Später hat sich Frerichs (2) mit dem Studium der Darmflora beschäftigt und Hefepilzen, Sarcinen, Fadenpilze und Frustularien beschrieben. Er meinte, daß diese Individuen weder störend, noch fördernd auf die Digestionsprozesse im Digestionsapparate einwirkten. Zürn (3) hat Sarcinen und Hefen näher bestimmt und sagt, daß sich Mikrokokken und stäbchenförmige Organismen im Verdauungstrichter aller Haustiere vorfinden. Im Dünndarm, in der Nähe des Pylorus, fand Nencki (4) Mikrokokken, im unteren Teile des Darmkanals, und ganz besonders im Grimmdarm, zylindrische Stäbchen und schreibt diesen Geschöpfen Bedeutung für den Umsatz der Nährstoffe zu. Szydlowski (5), Ernst (6) und Nothnagel (7) beschäftigen sich mit Studien über die Darmflora, aber erst Bienstock (8) kann auf diesem Gebiete das Kochsche Plattenverfahren verwenden und einige Bakterienarten isolieren. Er findet sehr kurze und Subtilis-ähnliche Stäbchen, die er als Sporenträger beschreibt, indem er behauptet, daß auch nur solche der Magensäure widerstehen können. Kuisl (9) konnte leicht zeigen, daß diese Annahme Bienstocks nicht stichhaltig war. Er züchtete beispielsweise auch Mikrokokken aus dem Darminhalt heraus. Nach seiner Ansicht ist die Magensäure nicht immer imstande, alle sporenfreien Keime zu töten. Einige gelangen doch hier und da in den Darm hinein und können sich dort schnell vermehren. Er denkt sich auch die Möglichkeit, daß eine Ausscheidung von Bakterien, die im Blute und in der Lymphe zirkulieren, durch die Darmwand statthaben könnte.

Escherich (10), der bahnbrechende Bearbeiter dieses Gebietes, veröffentlichte im Jahre 1886 seine Studien über Darmbakterien, indem er eingehend die Verhältnisse beim Säugling und Neugeborenen erwähnte. Der Meinung Kuissls, daß die Mikroben durch den Magen und unter pathologischen Verhältnissen auch durch den Kreislauf in den Darm gelangen können, stimmt er bei, und gibt die Analöffnung als eine weitere Eingangspforte an. Noch vor der Aufnahme der ersten Nahrung dringen die Mikroorganismen (Kokken, Hefen, Subtilis, Coli) mit der eingeatmeten Luft, durch Schluckbewegungen und per anum in den Darmkanal hinein. *Bacterium lactis aërogenes* (*Bact. acidi lactici*) herrscht in den oberen Abteilungen des Verdauungstraktes, in den unteren ist das *Bacterium coli commune* ganz dominierend.

Escherich unterscheidet zwischen obligaten Darmbewohnern, wie *Aërogenes* und *Bact. coli*, die immer zu finden sind, und fakultativen, die in mannigfaltiger Weise variieren und keinen ständigen Aufenthalt im Darne haben. *Bacterium coli commune* ist mit diesem Namen erst von Escherich belegt worden, welchem Forscher wir gleichfalls die ersten Untersuchungen über die biologischen Eigenschaften desselben verdanken. Daß das *Bact. coli commune* auch in Faeces von Erwachsenen regelmäßig vorkommt, hat Escherich in späteren Untersuchungen gezeigt. Miller (11) konnte von 25 verschiedenen im Munde eines Hundes gefundenen Bakterien 8 aus dem Magensaft und 12 aus den Darmentleerungen wieder isolieren. Demgemäß behauptet er, daß es Pilze gibt, welche in allen Teilen des Verdauungstraktes vegetieren.

Aus dem Mageninhalt einiger Hunde züchtete endlich Raczynski (12) mehrere Bakterienarten, die er als *Bacillus mesentericus vulgaris* (Vignal), *Bac. ventriculi* und *Bac. corabiformis* bezeichnete.

Um den Bakteriengehalt der einzelnen Abschnitte des Verdauungskanales von Herbi-, Carni- und Omnivoren handelt es sich in den Untersuchungen von de Giaksa (13). Er findet nur wenige Arten, besonders wenige bei den Herbivoren. Im flüssigen Darminhalt war die Menge der Bakterien bedeutend größer als in festen. Bei den Herbivoren fanden sich die meisten Bakterien im Dickdarm, die wenigsten im Magen; in der Mitte steht der Dünndarm. Bei den Carni- und Omnivoren enthält der Dünndarm viel weniger als der Magen. Diesen Unterschied führt de Giaksa auf den bei den Carnivoren stärker wirkenden Magensaft zurück. Die absolute Menge der Bakterien in allen Darmabschnitten erwies sich bei den Pflanzenfressern geringer als bei den übrigen Tieren. Im Dickdarm der Carnivoren vermehrten sich die Bakterien wieder sehr stark, während bei allen Tieren die Bakterienmenge des Mastdarms sehr stark schwankte.

Wie de Giaksa fand auch Katsura (14) den normalen Kaninchendarm sehr keimarm. Aus dem Rectuminhalt konnte er bei 3 Tieren bzw. keine, 3 und 10 Kolonien züchten, während er im Coecum stets die meisten Bakterien fand.

Die Darmbakterien bei Hühnern sind von Rahner (15) studiert worden; er fand: verflüssigende Kokken, *Micrococcus candicans*, *Bacillus megatherium*, *Bacterium fluorescens*, aber hauptsächlich Bakterien, welche keine Verschiedenheit gegenüber dem *Bacterium coli commune* des Menschen besitzen. Einen Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Hühnerdarmes liefert auch Joest (16).

Bei ihren Untersuchungen über Darmbakterien bei Pferd, Kuh, Ziege, Schwein, Hund, Katze, Kaninchen finden Harrison, Dyar, Simeon und Keith (17) bei Katze, Hund, Schwein und Kuh die meisten Mikroorganismen. Im Ziegen- und Kaninchendarm ist auch *Bacterium coli* selten, und die Faeces des Kaninchens finden die genannten Forscher, in Übereinstimmung mit de Giaksa und Katsura, oft steril. Das Pferd soll keine *Bact. coli* besitzen, als Ersatz aber einen von den Verfassern beschrieben und benannten *Bacillus equi intestinalis*.

Dieser *Bacillus* soll sich durch Unbeweglichkeit, fehlendes Gasproduktionsvermögen und Wachstum nur bei 37° C von dem *Bact. coli* unterscheiden. Er bringt Milch im Verlaufe von 2 Tagen zur Gerinnung.

Später hat Remmelts (18) sehr gut das *Bact. coli* aus dem Coecum züchten können, und wenn er einem Pferd Laxantia gab, konnte er auch in den Faeces das *Bacterium coli* nachweisen. Die Studien Remmelts über *Bact. coli* beim Rind, Schwein, Schaf, Ziege, Hund, Ratte, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn, Taube, Ente resümiert er ungefähr folgendermaßen: Die Coli-Bakterien der verschiedenen Säugetiere und Vögel können nach ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften nicht voneinander unterschieden werden.

Die Unterschiede, welche hier und da hervortreten, sind nur graduelle und machen sich auch bei Coli-Bakterien, welche aus demselben Individuum stammen, bemerkbar. Obgleich man aus diesen Gründen ein Recht hat, diese Bakterien als identisch zu betrachten, beweisen die Agglutinationsversuche, daß diese Identität in der Tat nicht besteht.

Huber (19) gibt eine Beschreibung von den in den verschiedenen Darmteilen von 5 Pferden vorgefundenen Arten bzw. Gruppen von Bakterien. Regelmäßig kamen weiße und gelbe Mikrokokken und Sarcinen, Streptokokken, Coli-Bakterien, gelatineverflüssigende Wasserbakterien, sporenbildende Bacillen, *Actinomyces* und Schimmelpilze vor. Viele der Mikrokokken und Sarcinen lassen sich schwer oder gar nicht in die beschriebenen Species einreihen, da sie in der Farbe ihrer Kolonien und in ihrem Wachstum, besonders in Milch und Gelatine, Abweichungen zeigen. Einige häufig vorkommende Mikrokokken erinnern an den *Microc. pyogenes*. Auch die Streptokokken des Pferdedarmes stimmen mit dem *Streptococcus pyogenes* überein. Doch finden sich neben diesen Intestinalstreptokokken (Baruchello) auch andere Streptokokken. Sporenbildende Bacillen kommen versuchsweise im Dickdarm und Magen vor, und sie wurden auch als acidophile Keime bei allen Pferden gezüchtet. Bei 2 Pferden wurden obligate Anaerobier festgestellt und durch Färbung konnten 2mal säurefeste Stäbchen nachgewiesen werden. Es wurden 17 Bakterien beschrieben, die mit den bekannten Arten nicht identifiziert werden konnten. Im zweiten Teile dieser Arbeit wurden 140 Coli- und Paracoli-Stämme von 55 Pferden isoliert und genau untersucht. Neben dem bei den meisten Pferden überwiegenden *Bact. coli commune* bzw. *Bact. acid. lactici* fanden sich zahlreiche Varietäten, die bezüglich der Säure- und Gasbildung aus Traubenzucker, Milchzucker und Rohrzucker in verschiedenen Graden abwichen. Bewegliche Stämme fanden sich in größerer Zahl als unbewegliche. Einige von diesen Coli-Formen (bei 5 von 100 Pferden) stehen den Paratyphus B- und den Hogcholerastämmen nahe, unterscheiden sich jedoch von diesen durch kräftige Säure- und Gasbildung aus Glycerin, durch schwache Schwefelwasserstoff- und fehlende Proteinchromobildung, sowie durch kräftige Indolreaktion und durch niedrigen Agglutinationstiter.

Klein (20) untersuchte die Entwicklung der Bakterienflora im Darmkanal des Kaninchens und konnte vom Magen bis zum After eine fortwährende Abnahme der Keimzahl nachweisen. Nicht einmal im Blinddarm und Mastdarm war eine Vermehrung festzustellen.

Diese Behauptung Kleins wird durch Untersuchungen von Ballner (21) nicht bestätigt. Er bezeichnet, wie früher Kohlbrugge, das Coecum des Kaninchens als Brutstätte der Coli-Bakterien. Von dem Blinddarm aus verbreiten sich dann die Coli-Bakterien sowohl aufwärts als auch abwärts im Darmkanale.

Wie Escherich und Kohlbrugge unterscheidet auch Ballner zwischen einer obligaten und einer in der Zahl stark zurücktretenden fakultativen Darmflora.

Popoff (22) fand bei neugeborenen Kälbern, wie Escherich bei neugeborenen Kindern und Rahner bei eben ausgebrüteten Hühnchen, den Darminhalt immer steril.

Heinick (23) lieferte im Jahre 1903 eine Studie über die Bakterienflora des Schweinedarmes. Er fand *Bacterium coli commune*, *Aërogenes*, *Bacillus mesentericus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *albus*, *citreus*, *Bacterium proteus vulgare*, *Bacillus mycoides*, *subtilis*, *megatherium*, *Bacterium fluorens liquefaciens*, *Bact. mirabilis*, *Proteus Zenkeri*, *Sarcina lutea*, *S. flava*, *Micrococcus flavus*, *Streptococcus acidilactici*, *Actinomyces albus*, *Oidium lactis* und dazu noch 13 unbekannte Arten. Von diesen ist No. 1 dem *Megatherium* sehr ähnlich, No. 2 gehört wahrscheinlich zwischen das von Migula beschriebene *Bacterium orchiticum* und *Bacterium leucaemiae*, No. 3 ist eine Coli-Aërogenes-Form (macht Milch nicht gerinnend), No. 4 ein *Actinomyces*, No. 5 ein Verwandter des *Streptococcus coli* (Escherich), No. 6 gehört in dieselbe Gruppe wie No. 5, No. 7 ist ein großer ($2-2\frac{1}{2}$ μ), weißer *Micrococcus*, No. 8 ein *Streptococcus brevis*, No. 9 ein plumpes, verflüssigendes, nicht sporenbildendes Stäbchen, No. 10 ein unbewegliches Kurzstäbchen mit geraden Enden und in Zoogloen liegend; es bildet keine Sporen, No. 11 ist eine Coli-acidi-lactici-Form, No. 12 ein großer *Streptococcus*, No. 13 endlich ist ein interessantes spirochätenartiges Gebilde, das wie kurze, gewundene Fäden aussah und dessen Enden ganz schwach zugespitzt schienen. An anderen Stellen schienen diese Fäden wie aus einer Reihe kettenartig angeordneter Stäbchen zu bestehen. Auffallend waren einzelne hellere, bald runde, bald längliche oder viereckige oder ganz unregelmäßige Stellen, die sich nicht wie Sporen färben ließen. Diese gramnegativen Fäden, die leider nicht näher untersucht werden konnten, wurden in der Ileocöcal-klappe eines Schweines gefunden. Ich habe ohne besseren Erfolg als Heinick versucht, No. 9, 10 und 12 von den erwähnten Organismen in das System der Bakterien einzureihen.

Heinick gibt eine Statistik über die bei jedem Schwein gefundenen Bakterien und resumiert folgenderweise: Im Darminhalt von 23 Schweinen finden sich regelmäßig nur das *Bact. coli commune*, das *Bact. lactis aërogenes* und wahrscheinlich auch der *Staphylococcus pyogenes aureus*. In bezug auf die Zahl der einzelnen Keime kommen die Coli-Bakterien in weitaus größter Menge vor. Den Coli-Bakterien fast gleich an Zahl kommt das *Bact. acidilactici*. Jedoch scheint im Dünndarm und im Blinddarm das *Bact. coli* zu überwiegen, während im Grimmdarm und Mastdarm das Mengenverhältnis beider Arten fast gleich ist. Im Mastdarm scheint öfters sogar das *Bact. acidilactici* an Zahl zu überwiegen. Alle die übrigen vorhin genannten Bakterienarten dagegen kommen auf fast allen Plattenkulturen nur in vereinzelter Kolonien vor. Ueberhaupt ist der Bakteriengehalt des Dünndarms wahrscheinlich infolge der Magenwirkung als ein überaus spärlicher zu bezeichnen. Ein auffallender, aber durch das Stagnieren der Massen leicht erklärlicher Keimreichtum fand sich fast durchgängig im Coecum.

Hüttemann (24) gibt einen Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Rindes. Er untersuchte Mischungen des Darminhaltes von allen 6 Darmabteilungen und findet: *Sarcina lutea*, *Staph. pyogenes citreus* und *albus*, *Micrococcus cereus flavus*, *rubellus*, *cerasinus*, *Bacterium lucidum*, *aërophilum*, *coli commune*, *paracoli anindolicum*, *paracoli anindolicum aërogenes* und *aglagopex*, *faecalis alcaligenes*, *constrictum*, *fluorens non liquefaciens*, *chlorinus*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces albus*. Von unbekannten Arten beschreibt Hüttemann:

a) einen *Micrococcus*, der mir ein rosettaceus (Zimmermann) zu sein scheint, β γ δ sind sehr dürftig beschriebene Bakterien, ϵ ist wohl ein *Bacillus* und als solcher ein Angehöriger der Gruppe, *oxalaticus* (Zopf)-*Megatherium* (de Bary), ζ scheint ein *Bacterium cremoides nobis ad interim* zu sein. Bei jedem Rind findet H. *Bacterium coli* und *Bacillus subtilis* nebst Abarten des ersteren, und er erwähnt, daß die verschiedenartigsten Bakterien vorübergehend auftreten können.

Ankersmit (25) machte ebenfalls 1905 seine Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. Er nimmt Proben aus Pansen, Labmagen, Dünndarm und Mastdarm und verwendet zur Aussaat sowohl pasteurisiertes als auch nicht pasteurisiertes Material, und unterscheidet, wie viele Bearbeiter, zwischen obligaten und fakultativen Magendarmbakterien. Die ersteren sind diejenigen, welche sich in wesentlicher Masse vermehren und in bestimmten Abschnitten mit gewisser Regelmäßigkeit getroffen werden. Hierher gehört in erster Linie das *Bacterium* Günther (*Streptococcus acidilactici*), welches seine Hauptbrutstätte im Pansen hat und von da ab in allen Abteilungen zu finden ist, in zweiter Linie das *Bacterium coli* und Verwandte, im Pansen wohl vereinzelt vorkommend, aber erst im Dünndarm und von da an abwärts in mehr oder weniger großer Menge auftretend und das *Bacterium acidilactici* begleitend.

Zur zweiten Gruppe gehören die Kokken und meist peptonisierende? Erdbakterien und dann die anaeroben, ebenfalls sporenbildenden Fäulnisbakterien. Sie werden mit dem Futter aufgenommen und finden anscheinend auf ihrem Wege durch den Verdauungskanal keine Gelegenheit zu ausgiebiger Entwicklung.

Baruchello (24) sucht nach Streptokokken in normalen Pferde- und Eseläces. In 92 von 89 Pferden herrührenden Proben findet er 92mal Streptokokken, und zwar eine Streptokokkenform, die er näher beschreibt. Er verwendet ein Anreicherungsverfahren mit 1-proz. Koffeinbouillon, die die Entwicklung der *Coli*-Arten verhindert. Der erwähnte *Streptococcus* bildet Ketten von 4–40 Körnern, 0,8–1,5 μ im Durchmesser, und ist ein gramnegativer, nicht verflüssigender Organismus, der Milch langsam gerinnen läßt und eine schwache Pathogenität für Mäuse und Meerschweinchen besitzt. Bei Pferden ruft er nach subkutaner Impfung eine schmerzhaftige Anschwellung hervor, die sich bald wieder verteilt. Durch Meerschweinchenpassage läßt sich die Virulenz bedeutend steigern, so daß sie der des *Strept. pyogenes equi* nahe kommt. Von diesem letztgenannten Mikroorganismus ist der normale Darmstreptococcus jedoch immer noch durch den Agglutinationstiter zu unterscheiden.

Bezüglich der anaeroben Darmbakterien gelang es Heinick (23) nicht, der mit dem modifizierten Pfeifferschen Apparate experimentierte, solche aus dem Schweinedarme zu isolieren. Bienstock (27) beschrieb im Jahre 1884 einen von ihm *Bacillus putrificus* — einen dem Tetanus ähnlichen Sporenträger — genannten *Bacillus*, den er aus dem menschlichen Darminhalte gezüchtet hatte. Später ist es ihm und anderen Forschern jedoch nicht gelungen, diesen Fäulniserreger im Darm wieder nachzuweisen. Er fütterte Kaninchen mit großen Mengen von Spuren des *Bacillus putrificus* und impfte ihre Faeces auf Fibrin, ohne jedoch Fäulnis erregen zu können. Bienstock hat auch Fibrin mit kleiner Menge gut gemischter Gartenerde geimpft und dadurch faulige Zersetzung des Nährbodens hervorgerufen. Im mikroskopischen Präparate wies er das charakteristische Stäbchen nach.

Von dieser besagten Erde aß er täglich während 3 Wochen, fand aber in seinen Faeces niemals den *Bacillus putrificus*, aber auch keine anderen anaeroben Arten. Er konnte in keiner Weise mit seinen Faeces Fibrin zur Fäulnis bringen, und er zieht daraus den Schluß, daß die fremden Eindringlinge von den normalen Darmbakterien vernichtet werden. Andere Forscher meinen, daß bakterizide Stoffe, welche von den Gewebeelementen erzeugt werden, die Vernichtung besorgen. In Versuchen von Schütz (28) mit *Vibrio Metschnikoffi* war der Magensaft dazu nicht imstande.

Neubauer (39) konnte mit dem Botkinschen Apparate aus dem Rinderdarme 4 Anaerobier züchten. Er nahm Proben vom Dünndarm, vom Grunde des Blinddarms, vom Mastdarm bei 30 Rindern und hat 1800 (er berechnet selber falsch 900) unter anaeroben Bedingungen gewachsenen Kolonien geprüft. Dabei hat es sich herausgestellt, daß die strengen Anaerobier im Rinderdarme über alles Erwarten gering an Zahl sind. Von den 4 isolierten Stämmen ist nur der eine, aus dem Dünndarm isolierte ein strenger Anaerobier. Es ist ein grampositiver Diplococcus, der in Traubenzuckeragar in runden, bläulich-weißen Kolonien wächst. Bei 22° findet kein Wachstum statt, bei 37° wächst er langsam. Die anderen aus dem Blinddarm gezüchteten Formen wachsen nicht obligat, obwohl vorzugsweise anaerob. Sie sind untereinander nahe verwandte, sporenfreie Kurzstäbchen, die jedoch kaum, wie Ankersmit meint, zu der *Coli*-Gruppe gerechnet werden können. Alle 4 Arten sind nicht pathogen.

Hüttemann (24) versuchte auch, Anaerobier im Rinderdarm zu finden, konnte aber weder mit dem Büchnerschen oder Kippschen, noch mit Forsters Kugelmikroskopmethode Anaerobier feststellen.

Ankersmit (25) züchtet in hoher Schicht Kulturen aus pasteurisiertem Materiale vom Dünndarm und Mastdarm ein Stäbchen, das sich identisch mit dem *Bacillus putrificus* (Bienstock) zeigte.

Ferner beschreibt derselbe Verfasser ein obligat anaërobes, nicht sporenbildendes Bakterium, das er *Bacterium clostridiiforme* Burri et Ankersmit nennt. Es ist ein-gramnegatives, unbewegliches Stäbchen, meist zu 4, auch zu 2 in Ketten.

Passini (30) gibt ein Anreicherungsverfahren an, nach dessen Anwendung große Mengen (400000 pro 1 g) des *Bacillus putrificus* in menschlichen Faeces nachzuweisen wären. Dieses Verfahren hat Ankersmit beim Schluß seiner Arbeit mit gutem Resultate auf Kuhkot verwendet, doch hat er nur 100—1000 Individuen pro 1 g Fäkalien feststellen können. Er meint demnach, daß der Tätigkeit dieses Organismus neben den übrigen Umsetzungen im Darm des Rindes keine größere Bedeutung beizumessen wäre.

Suchsdorff (31) bestimmt für die Menge der in den Faeces zweier Versuchspersonen enthaltenen Bakterien als Durchschnittszahl 381 000 pro Milligramm.

Hüttemann (24) verwendet das Gelatineplattenverfahren, um die absolute Menge der Darmbakterien des Rindes festzustellen, indem das Material eine Mischung von allen 6 Darmabteilungen repräsentiert. Er findet im Durchschnitt 958 000 pro 0,1 ccm des Untersuchungsmaterials, hebt aber hervor, daß die absolute Zahl wegen der Verschiedenartigkeit der Wachstumsbedingungen nicht bestimmt werden kann.

Ankersmit (25) arbeitete sowohl mit Gelatineplatten als auch mit Dextroseagar in hoher Schicht nach Burri und berücksichtigt nur die untere Hälfte des Agarzylinders, indem die obere Schicht unter Umständen stark mit luftbedürftigen Arten durchsetzt sein könnte. Man muß denn, meint er, in vielen Fällen die Keimzahlen der Platte zu denen des Agarzylinders addieren, um die annähernde Gesamtzahl zu bekommen. Der Verfasser bestimmt die Zahl der Bakterien und die vorherrschenden Bakterienarten im Pansen, Labmagen, Dünndarm, Mastdarm und Blinddarm. In bezug auf die genaueren Angaben verweise ich auf die Arbeit Ankersmits. Hier sei nur bemerkt, daß seine von Gelatineplatten erhaltenen Zahlen zwischen 1200 und 1 040 000 Keimen pro 1 g schwanken. Im Dextroseagar hoher Schicht zählt er von 17 000—1 000 000 pro 1 g. Bei Milchkälbern sind die entsprechenden Zahlen 12 000 bis 950 000 000 und 45 000—7 200 000 000.

Er resumiert seine Untersuchungen in dieser Beziehung folgendermaßen: Die höchsten Keimzahlen finden sich im Pansen, während im Labmagen immer eine bedeutende, manchmal fast bis zur Vernichtung gehende Reduktion eintritt. Im mittleren Dünndarm sind die Zahlen in der Regel noch kleiner als im Labmagen (wahrscheinlich mehr infolge der starken Verdünnung durch die Verdauungssäfte, als infolge einer Abtötung durch irgendwelche bakterizide Agentien). Im Dickdarm ist sodann wieder eine Zunahme des Keimgehaltes zu verzeichnen, das nicht nur auf die Eindickung des Inhalts, sondern auch auf eine Vermehrung der Bakterien zurückzuführen ist. Im Blinddarm und Mastdarm nimmt die Bakterienmenge noch weiter zu, ohne aber Zahlen, wie sie im Pansen gefunden werden, zu erreichen. Im Vergleich zum Rinde findet man in den Verdauungswegen des Milchkalbes enorm hohe Keimzahlen, die höchsten im Mastdarm. Hier sind es auch die nicht gasbildenden Milchsäurebakterien, *Bact. Günther* (*Streptococcus acidilactici*) und die langen Milchsäurebakterien, welche die hohen Keimzahlen bedingen.

Ueber das Vorkommen von Infusorien im Wiederkäuermagen handelt eine Arbeit von Eberlein (32). Er konnte bei 87 Wiederkäuern in 86 Fällen Infusorien nachweisen, die einen normalen Bestandteil des ersten und zweiten Magens der Wiederkäuer bilden und eine gewisse Bedeutung für die Zelluloseverdauung besitzen sollen.

Welchen Einfluß die Fütterung auf den Bakteriengehalt hat, versuchten Wütrich und Freudenreich (33) bei 2 Kühen festzustellen. Trockenfütterung gibt mehr Bakterien im Kot als Grasfütterung. Werden anstatt Heu saure Kartoffeln gegeben, so sinkt die Keimzahl. Heufütterung bedeutet nicht nur eine Steigerung der Menge von Heubacillen, sondern eine Zunahme der Coli-Bakterien im Kot. Es scheint also, als führe die Heufütterung gute Bedingungen für die Coli-Formen herbei.

Brotzu (34) fütterte Hunde mit steriler Nahrung und glaubte, dadurch eine Verminderung der Keimzahlen herbeiführen zu können. Beim Fasten fand er eine Zunahme der Bakterienanzahl, denn nach 8-tägigem Fasten eines Hundes stellte er mehr Bakterien in dessen Darmkanale fest, als nach 5-tägigem.

In den Jahren 1896 und 97 machte Lembke (70) Versuche über dasselbe Thema, und benutzte dazu ebenfalls Hunde, die er mit Brot, gemischter Kost, Fleisch oder Fett fütterte. In dem Faeces dieser Hunde konnte er immer *Bacterium coli* finden, während die übrigen Bakterienarten mit dem Futter wechselten. Gab er einem Hunde außer der Nahrung gewisse Mikroben, so konnte er in einigen Fällen eine Vernichtung der gewöhnlichen Darmbakterien durch die eingebrachten Mikroben erzielen, in anderen Fällen war das Ergebnis ein umgekehrtes. Eine Aenderung der Peristaltik brachte auch eine Aenderung in der Bakterienflora mit sich.

Hammerl (35) ist nicht wie Brotzu imstande, durch sterile Nahrung eine Abnahme der Darmbakterien hervorzurufen und vermag auch nicht zu bestätigen, daß ein Futterwechsel von vegetabilischer Nahrung zu gemischter Nahrung irgendwelche Änderung in der Darmflora des Hundes mit sich bringt.

Es ist eine alte Ansicht, daß der alkalische Darmsaft ein besonders guter Nährboden für die Bakterien sei. Diese Meinung wird (jedenfalls) nicht von Kohlbrugge (36) geteilt, wenigstens nicht, was den Dünndarm betrifft. Nach seinen Untersuchungen besitzen Magen und Darmwand bakterizide Schutzvorrichtungen, die im Dünndarme fast eine Sterilisation (Antosterilisation) des Inhalts zustande bringen. (Vgl. die oben erwähnte abweichende Ansicht Ankersmits). Auch verschiedene pathogene Keime — Milzbrandbacillen ohne Sporen — werden im Darmtraktus vernichtet. Warum werden aber die obligaten Darmbewohner nicht getötet? Lembke, Kohlbrugge und andere Forscher erklären diese Tatsache durch die Annahme einer Art Symbiose zwischen den Zellen der Darmschleimhaut und den betreffenden Bakterien. Diese Pseudosymbiose ist im Dickdarm besonders ausgesprochen und stärker ausgeprägt bei Erwachsenen als bei Kindern. Jedes Individuum hat eigene Coli-Bakterien, die sich agglutinatorisch von denen aller anderen Individuen unterscheiden. Daraus folgt aber, daß die Coli-Bakterien eines Individuum ziemlich unabhängig von den mit der Nahrung im Darm eingeführten sein müssen. Sterilisierung der Nahrung und Reinigung der Mundhöhle hat dementsprechend nach mehreren Forschern auch keinen Einfluß auf die Darmfäulnis; dagegen soll die Nahrung doch eine gewisse Bedeutung für die Mengenverhältnisse der obligaten Darmbakterien haben.

Nach Bienstock (27) und Escherich (10) sind die Coli-Formen bei Milchnahrung, die Fäulniskeime bei Fleischkost überwiegend. Man darf wohl annehmen, daß es eine fakultative und eine obligate, teilweise wenigstens individuelle Darmflora gibt. Die fakultative ändert sich mit der Nahrung, von dieser wird die obligate Darmflora nur in quantitativer Beziehung beeinflußt.

Die Frage, welche Bedeutung die Darmbakterien für den Umsatz der Nahrungsmittel haben, ist von Macfadyen, Nencki und Sieber (37) behandelt worden. Sie fanden, die Dünndarmmikroben vorzugsweise die Kohlehydrate, die Bakterien des Dickdarms nur das Eiweiß zersetzen; doch sind die Mikroorganismen in dieser Beziehung nicht unentbehrlich. Die grundlegenden Untersuchungen über Cellulosegärung im Darmkanal verdanken wir Tappeiner (38). Er fütterte Rinder mit Heu und studierte dann die Vorgänge im Pansen, in der Mitte des Dünndarms und im Dickdarm. Der Pansen wurde als die Hauptstelle der Cellulosegärung erkannt; im weiteren Sinne kommt der Dickdarm, während der Dünndarm in dieser Beziehung keine Rolle spielt. Tappeiner forschte ohne Erfolg nach einem celluloselösenden Enzym, dagegen konnte er durch Verimpfung von Panseninhalt in Cellulose enthaltenden Flüssigkeiten eine künstliche Gärung hervorrufen. Daraus schließt er, daß die Celluloselösung von Bakterien besorgt wird.

Unter mehreren späteren Forschern auf diesem Gebiete möchte ich Omelianski (39) nennen. Er unterscheidet zwischen 2 Arten von Cellulosegärung, einer Wasserstoff- und einer Methangärung, die durch Erhitzung gärender Gemische voneinander zu trennen sind. Omelianski gelang es, den Erreger der Wasserstoffgärung reinzuzüchten; in Reinkultur vermochte aber derselbe nur sehr schwach Cellulose zu vergären. Der Erreger der Methangärung wurde nicht in Reinkultur erhalten. Beide Gärungen verlaufen sehr langsam, doch meint Omelianski, den genannten Mikroorganismen eine gewisse Bedeutung neben der Wirkung eventueller Cellulosefermente beimessen zu müssen.

Ankersmit (25) konnte höchstens 2000 Cellulosevergärer pro 1 ccm Darminhalt nachweisen. Im Pansen waren ganz besonders wenige zu finden, häufig nur 10 pro 1 ccm, trotzdem gerade im Pansen die bedeutendste Celluloselösung stattfinden soll. Im Labmagen, Dünndarm und Mastdarm fand A. als mittlere Keimzahl 100 und 1000 pro 1 g Inhalt. Die geringe Keimzahl, die langsame Entwicklung und lange Inkubationszeit (etwa 10 Tage) dieser Bakterien, wie auch die Umstände, daß im Futter (Heu) ungefähr dieselbe Menge von Cellulosevergärern als im Darmkanal vorhanden sein können, sprechen gegen eine wichtige Beteiligung der genannten Organismen bei dem Celluloseumsatz im Darmkanal. A. meint denn, daß die endgültige Lösung dieser Frage vielleicht doch im Sinne von Hofmeister und Holdefleiß erfolgen wird, welche versuchten, die Cellulosegärung im Verdauungstraktus des Rindes auf bestimmte Enzyme der Magen- und Darmsäfte zurückzuführen. Von Hemicellulose und Pektinstoffe vergärende Organismen findet A. nur 3mal 100 und 200 als maximale Werte pro 1 g Substanz, und schließt daraus, daß die fraglichen Organismen keine größere Bedeutung für die Vorgänge im Verdauungstraktus als die der Cellulosevergärer haben können. A. isolierte 17 Stämme von Hemicellulosevergärern, die untereinander und mit dem *Bacillus asterosporus* identisch waren.

Mereschkowsky (40) findet bei sämtlichen Haustieren 2 Arten von acidophilen Bakterien, die er *Bacillus acidophilus* No. 1 (identisch mit *Bacillus bifidus communis*) und No. 2 (identisch mit *Bac. acid. Moro*) nennt. Diese 2 Formen konnte er als obligate Darmbewohner bei Affen, Nagetieren, Raubtieren, Wiederkäuern, Dickhäutern, Vögeln, Fischen, Amphibien und Mollusken nachweisen. M. gelangt zu der Ansicht, daß diesen Organismen kaum eine direkte Bedeutung für die Milchverdauung zukommt, daß sie aber einen regulierenden Einfluß auf die Darmflora ausüben und unter gewissen Umständen imstande sind, auch die Entwicklung von Krankheitserregern zu hemmen. Daß die obligaten Darmbakterien überhaupt eine wichtige Rolle spielen durch eine solche Wirksamkeit behauptet unter anderen Kohlbrugge (36).

Ob die normalen Verdauungsprozesse bei völliger Abwesenheit aller Mikroorganismen auch normal ablaufen, ist eine Frage, mit der Nuttall und Thierfelder (41) sich beschäftigen. Ein Meerschweinchen wurde durch die *Sectio caesarea* im sterilen Raum dem Uterus entnommen und unter Zuführung steriler Nahrung und Luft aufgezogen. Es konnte sich unter diesen Verhältnissen ebenfalls entwickeln, aber lange nicht so gut, wie die mit gewöhnlicher Nahrung gefütterten, aber sonst in gleicher Weise behandelten Kontrolltiere. Schottelius (42) stellte durch schöne Versuche mit jungen Hühnchen des weiteren fest, daß ein Leben ohne Bakterien wohl möglich sei, daß man aber ein solches Dasein nur als ein sehr kümmerliches bezeichnen kann. Durch diese Versuche von Nuttall, Thierfelder und Schottelius ergibt sich auch, daß die Bakterien eine andere, größere Rolle spielen müssen, als eine regulierende, antagonistische. Schaltet man alle Bakterien aus, so läßt das Gedeihen der Versuchstiere doch viel zu wünschen übrig.

Bezüglich der Gegenwart von pathogenen Keimen im Darmkanal fand Theobald Smith (43) in kleinen Dickdarmgeschwüren von Schweinen eine Menge von Vibrionen und vielen feinen Spirillen, die aus 2—3 krummen Segmenten bestanden. Hugo Salomon (44) konnte Spirillen im Säugetiermagen und dessen Belegzellen nachweisen. Roux (45) fand ein Spirillum im Pansen, und glaubt, daß es bei der Verdauung eine wichtige Rolle spielt.

Olt (46) findet in den fast regelmäßig im Coecum und Colon jedes gesunden Schweines vorhandenen entozoischen Geschwüren Rotlaufbacillen neben oviden, dem Schweineseuchenbacillus ähnlichen Organismen. Eine Prüfung der Follikularpröpfe an der Ileocöcalöffnung bei ganz gesunden Schweinen ergab das gleiche Resultat. Dieser in veterinärpolizeilicher Hinsicht interessante Befund wird später von Jensen (47) und Bauermeister (48) bestätigt. Heinick (23) gelang es nicht, Rotlaufbacillen noch die oviden Stäbchen nachzuweisen.

van Velzen (49) fand regelmäßig Rotlaufbacillen im Sekret der Tonsillen neben oviden Bakterien in den Follikulartaschen in den Ileocöcalklappen.

Jensen (50) kam durch seine grundlegenden Arbeiten über Kälberruhr zu der Annahme, daß die gewöhnlichen Coli-Bacillen unter gewissen Verhältnissen virulente Eigenschaften annehmen können, während Poels (51) glaubt, daß bei der Coli-Bacillose der Kälber eine ganz bestimmte Varietät des *Bact. coli commune* in Betracht komme, die zu den gewöhnlichen Darmbakterien in keiner Beziehung steht. Weichel (52) fand in der großen Mehrzahl der Kälberruhrfälle im Herzblut, in den inneren Organen und im Muskelfleisch nur Coli-Bacillen. Ueber Coli-Bacillen als Erreger von Euterentzündungen hat schon Guillebau (53) gearbeitet, bevor noch der Terminus Coli-Bacillus (*Bact. coli commune*) aufgestellt worden war. Bei dieser Krankheit spielen die Coli-Formen (gewöhnliche Darmbewohner oder virulente Varietäten?) bekannterweise eine große Rolle. Piorkowski und Jess (54) fanden einen Coli-Bacillus als Erreger eines seuchenartigen Pferdesterbens in Westpreußen, und Zschokke (55) berichtet über eine croupöse Enteritis bei der Katze, die von einem virulenten *Bact. coli* verursacht war. Wie Huber im Pferdedarm findet van Velzen im Darne des Schweines dem *Bacterium enteritidis* Gärtner ähnliche Organismen.

Der Nekrosebacillus wurde von Bang (56) 2mal im normalen Darminhalte von Schweinen durch Impfungsversuche nachgewiesen, und auch van Velzen (49) glaubt, wiederholt Nekrosebacillen im Schweinedarm gefunden zu haben.

Nach Kitt (57) sind die Tetanuskeime in der Außenwelt weit verbreitet; sie finden sich in der Erde, namentlich in gedüngter, im Kehricht, Straßenstaub, Pferdemit, überhaupt in den Fäkalien der Tiere und der Menschen. Ob sie nun zufällig in den Darm kommen, oder ob sie hier ihre Hauptvegetationsstelle haben, ist nicht festzustellen. Kitt meint, daß der Bacillus des malignen Oedems häufig im Heustaub, im Kehricht und im Magendarminhalt der Tiere zu finden ist. Neubauer (29) ist es nicht gelungen, die Bacillen noch Sporen des Tetanus, geschweige die des malignen Oedems im Dünndarm des Rindes nachzuweisen. Er nimmt an — aber wohl kaum mit Recht — daß diese Bakterien im Magen oder Duodenum zu-

grunde gehen. In perityphlitischen Abszessen bei Menschen werden Pseudo-Tetanus-bacillen manchmal gefunden [Tavel (59)].

Ribbert (58) erwähnte (1883) tuberkulöse Neubildungen im Hühnerdarm; er konnte in den Faeces aber keine Tuberkelbacillen feststellen.

Heinick (23) versuchte ohne Erfolg Tuberkelbacillen in den Faeces von 2 tuberkulösen Kühen und Schweinen nachzuweisen; in keinen von diesen Fällen war Darm-tuberkulose vorhanden.

Nach Huttyra und Marek (71) enthält der Kot gesunder Tiere in Milzbrand-distrikten gelegentlich Sporen, die mit dem Futter und dem Trinkwasser aufgenommen werden.

van Velzen (49) konnte mikroskopisch bei Schweinen wie Huber (19) bei Pferden das Vorkommen von säurefesten Stäbchen in den Faeces nachweisen.

Während Grönning (60) im ersten Viertel des Dünndarms vom Rind weder mikroskopisch noch kulturell Streptokokken finden konnte, fand er in den hinteren Abschnitten desselben 2—4-gliedrige Ketten in geringer Anzahl. Im Dickdarm nahm allgemein die Darmflora bedeutend zu und auch die Streptokokken, bis letztere im Mastdarm in kürzeren und längeren, 10—30-gliedrigen Ketten vorkamen. G. bezeichnet nach v. Lingelsheim die Streptokokken als *Streptococcus brevis* und *longus*. Von 8 Stämmen aus dem Rinderdarm gehören 2 der langen, 6 der kurzen Form an. Nur 1 von 15 Kulturen aus dem Rinderdarm findet G. pathogen, während ein Drittel der Kulturen aus Eutersekreten — nach ziemlich großen Dosen — Mäuse töten. Von 15 Stämmen aus den Eutersekreten waren 11 säurebildend, während kein einziger Darm- oder Stallbodenparasit diese Eigenschaft besaß.

v. Freudenreich (61) fand viele Kokken, teils verflüssigende, teils nicht verflüssigende im Pansen vor.

Steiger (62) isolierte mehrere Kokken vom Pansen und Psalter des Rindes und teilt diese Kokken nebst einigen alleinstehenden Arten in 2 große Gruppen ein. Die erste Gruppe, verflüssigende und Milch gerinnende, hält er für identisch mit dem *Staphylococcus mastitidis* (Guillebeau) und die zweite, nicht verflüssigende Gruppe steht der ersten jedenfalls sehr nahe. Die von v. Freudenreich und J. Thöni (63) aus frisch gemolkener Milch gezüchteten, verflüssigenden und nicht verflüssigenden Kokken lassen sich in der Hauptsache mit den Steigerschen identifizieren.

Nach Olt (64) vegetiert der *Bacillus pyogenes* in der Maulhöhle von Rind, Schaf, Ziege, Reh, Schwein und Wildschwein als *Sputumbacillus*. Besonders massenhaft sitzt er in den Tonsillarpfröpfen des Schweines. Olt empfiehlt die Isolierung des Bakterium aus Mikrobengemischen durch Impfung des Materials unter die Hautfalte am hinteren Rande des Kaninchenohres.

Mit der hochinteressanten Frage, welche Rolle der Magendarmkanal als Infektionsweg spielt, beschäftigt sich Uffenheimer (65). Er bringt per Klysma Kaninchen verschiedene Keime (*Prodigiosus*, Geflügelcholera, Tuberkeln) in den Verdauungstraktus hinein und bemerkt eine Steigung der Keime entgegen der Peristaltik durch Magen und Oesophagus bis in den Schlund; er fand sie nach 4 Stunden im Respirationssystem. Wird der Oesophagus unterbunden, so sind die Keime gewöhnlich im Respirationstraktus nicht nachweisbar. Uffenheimer hält es für wahrscheinlich, daß andere Tiere sich in dieser Beziehung wie das Kaninchen verhalten. Dralle (66) gelangt in seinen ähnlichen Versuchen mit Tauben, Schweinen, Schafen, Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen zu dem entgegengesetzten Resultate, kommt eine Infektion zustande, so geschieht es immer auf enterogenem Wege.

Calmette und Petit (67) konnten vom Verdauungswege aus mittels virulenter Streptokokken leicht eine Infektion zustande bringen. Nach 6 Stunden sind die Streptokokken im Blute nachweisbar und erregen spontan oder nach Trauma Osteomyeliten. Auch ohne irgendwelchen Schaden zu verursachen, können die Streptokokken im Organismus zirkulieren und aus dem Knochenmark gezüchtet werden.

Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien hat neuerdings Westholz (68) ein dickes Buch geschrieben, das sich mit sehr vielen anderen Fragen beschäftigt. In seinen Schlußfolgerungen tritt er den Gegnern der Permeabilität entgegen. Diese nehmen bekanntlich bloß bei pathologischen, oft nur mikroskopisch festzustellenden Aenderungen in der Schleimhaut eine Durchgängigkeit derselben an. Westholz schließt sich den Vertretern der Wissenschaft an, die auch bei ganz intakter Schleimhaut die Permeabilität der Darmwand behaupten; seine Versuche sind aber nicht geeignet, irgendwelche Aenderungen in dem heutigen Stand dieser so sehr umstrittenen Frage herbeizuführen.

Die Entscheidung, ob die intakte Schleimhaut für Mikroorganismen durchgängig sei, oder ob feine mikroskopische Aenderungen, die voraussichtlich sehr allgemein vorkommen, erst eine Durchgängigkeit erlauben, wird kaum je zu treffen sein. Ich sehe

auch nicht ein, warum dieser Entscheidung so große Bedeutung beizumessen ist. Tatsächlich ist es, daß es verschiedenen exakten Forschern gelungen ist, in vielen Fällen eine Permeabilität nachzuweisen. Haben die Tiere, die sich als völlig gesund verhalten, bei denen auch die mikroskopische Durchmusterung der Darmmucosa keine Defekte zeigt, doch kleine Lücken in der Kontinuität der Epithelschicht, welchen Wert hat dies dann? Bezüglich der einschlägigen Literatur verweise ich auf das ausführliche Verzeichnis von Westholz.

Ist aber die Darmschleimhaut für Bakterien durchgängig, so muß wohl dort, wo die bedeutendste Resorption stattfindet, auch die größte Möglichkeit für eine aktive oder ganz passive Durchquerung der Darmwand durch Bakterien vorhanden sein, und solche Möglichkeiten könnte man im Psalter und Dickdarm des Rindes anzutreffen erwarten. Es wäre eine interessante Frage, ob die beim Rinde am häufigsten auftretenden pathogenen Keime in diesen Darmabschnitten einen ständigen Aufenthalt haben.

Elgene Untersuchungen.

Das Material wurde bei meinen Versuchen unter aseptischen Kautelen auf dem Berner Schlachthaus entnommen und in sterilen Petri-Schalen in das Laboratorium gebracht, wo die Verarbeitung sofort begonnen wurde. Ich habe immer eine Oese voll Darminhalt in steriler physiologischer Kochsalzlösung gut verrieben und aufgeschwemmt; aus diesem ersten Röhrchen wurden wieder 3 Verdünnungen hergestellt. Stets wurden Agarplatten — bei den ersten Versuchen mit einem Zusatze von 2 Proz. Traubenzucker — und in den meisten Fällen auch Serumagarplatten gegossen.

Dieses Verfahren hat gegenüber der Aussaat auf Gelatineplatten, die von anderen Bearbeitern dieses Themas immer verwendet worden sind, jedenfalls den Nachteil, daß die Verdünnungen sehr schwach gemacht werden mußten, um überhaupt isolierte Kolonien zu bekommen. Infolgedessen können wegen des rapiden Wachstums und der Ausbreitung der einzelnen Kolonien die Agarplatten demnach nicht so reich an isolierbaren Kolonien werden. Aber man durfte wohl als Ersatz für dieses Uebel hoffen, Bakterien aufgehen zu sehen, die nur bei 37° C und auf Serumnährböden gedeihen, und da es meine eigentliche Aufgabe war, nach pathogenen Keimen im Psalter und Colon des Rindes zu suchen, habe ich das erwähnte Verfahren gewählt.

Bei den Untersuchungen des Coloninhaltes habe ich zur Agarherstellung einige Male filtrierten und sterilisierten Coloninhalt verwendet. Diese Flüssigkeit wurde mit 10 Proz. Pepton versetzt und mit der gleichen Menge Bouillon vermischt. Ich hatte gedacht, dadurch auch einige nur in Symbiose lebende Keime auf den Platten erhalten zu können, oder zum wenigstens einen Nährboden herzustellen, der möglichst große Aehnlichkeit mit den natürlichen Verhältnissen im Colon zeigen würde. Es muß immerhin zugegeben werden, daß die Sterilisation der Filtrate wieder bedeutende Aenderungen in denselben hervorrufen konnte. Durch Filtration mittels Porzellanfilter und vorheriger Bereitung des Agars mit der Hälfte der normalen Bouillonmenge wäre diesem Uebel wohl zu begegnen. Jedenfalls habe ich bei dem erwähnten Nährboden keine Vorzüge den gewöhnlichen Nährböden gegenüber beobachten können.

Das Material wurde teils in der Tiefe zwischen den Psalterblättern genommen, teils von deren Wänden abgeschabt; diesem Unterschiede in der Materialentnahme entsprach jedoch keine Aenderung in dem Verhalten der nachgewiesenen Bakterien.

Alle Inhaltsproben aus dem Psalter und Dickdarm entstammen frisch geschlachteten Tieren. In oben erwähnter Weise habe ich 10

Psalter- und 5 Colonproben von erwachsenen Rindern und 2 Psalter- und 3 Colonproben von 6—8 Wochen alten Kälbern untersucht.

Orientierende Untersuchungen.

Ich habe versucht, bei jeder Probe festzustellen, welche Mikroorganismen im Ausstrichpräparate und wieder in den Kulturen zu finden waren, um dadurch eine Uebersicht über das sowohl qualitative wie auch quantitative Verhalten der einzelnen Arten im Psalter und Colon zu gewinnen. Eine eingehende Erwähnung jedes einzelnen Falles erachte ich nach den ausführlichen Untersuchungen von Ankersmit, die in der Hauptsache dasselbe Thema behandelten, für überflüssig. Meine Resultate stimmen mit den Ankersmitschen ziemlich überein.

Ich beschränke mich aber hier auf eine Zusammenstellung aller Ergebnisse.

Resumé der orientierenden Untersuchungen.

1) Im Psalter des Rindes kommen ständig Coli- wie Bact. acid. lact.-Formen vor und fast ebenso regelmäßig Keime aus der Subtilis-Mesentericus-Gruppe. Verschiedene Kokken, Mikrokokken, Sarcinen, Streptokokken werden kaum je vermißt. Häufig sind Schimmelpilze und amöbenartige Körperchen. In wenigen anaëroben Kulturen habe ich einmal ein Fäulnisstäbchen, einen Köpfchensporenträger, gefunden, der ziemlich sicher mit dem *Bacillus putrificus* Bienstock identisch war.

Säurefeste Stäbchen, sowohl schlanke, Tuberkelbacillen-ähnliche als auch plumpe, grobe und feine Spirillen sind hier und da durch Färbung nachzuweisen.

2) Der Bakteriengehalt des Psalters wie der des Colons schwankt bedeutend und ist um so größer, je flüssiger der Inhalt der genannten Darmabteilungen ist. Im Colon ist die Bakterienmenge scheinbar reichlicher als im Psalter und die Bakterienzahl ist beim Kalbe viel größer als beim erwachsenen Rinde.

3) Der ständige und fast immer ganz vorherrschende Bewohner des Colons ist *Bacterium coli. commune* in zahlreichen Varietäten. Regelmäßig sind im Colon Formen aus der Subtilis-Mesentericus-Gruppe zu finden. In zweiter Linie kommt eine stets wechselnde Flora von verschiedenen Kokken usw. vor.

4) In Ausstrichpräparaten vom Psalter- und Coloninhalt fand ich — im Gegensatz zu Ankersmit — fast immer feine, oft grampositive Stäbchen, die selten auf den Agar- oder Serumagarplatten wieder nachzuweisen sind.

5) Beim erwachsenen Rinde treten die Erdbakterien zahlreicher auf als beim Kalbe, im übrigen gibt es keinen qualitativen Unterschied zwischen der Psalter-Colon-Flora des erwachsenen Rindes und der des Kalbes.

Beschreibung der einzelnen Bakterienarten.

Zur Bestimmung der in dem folgenden beschriebenen Bakterien habe ich hauptsächlich die bakteriologische Diagnostik von Lehmann und Neumann (69) verwendet und bei der Geißelfärbung immer die Zettnowsche Versilberungsmethode benutzt. In den meisten Fällen habe ich bei der Sporenfärbung folgende Methode verwendet:

1) Erhitzen — 2 bis 3 Minuten — bis zum Kochen mit Thioninlösung nach Nicolle.

2) Abspülen mit Wasser.

3) Färben mit 2-proz. wässriger Eosinlösung während 10—20 Sekunden.

4) Abspülen und Trocknen.

Die Sporenkapsel präsentiert sich nach dieser Methode oft als ein ungefärbter Saum zwischen der blau gefärbten Sporenmitte und dem roten Bacilluskörper.

Die Färbung gelingt nicht immer; sie hat aber in den Fällen, wo die Sporen nach der modifizierten Möllerschen Methode für den Farbstoff nicht zugänglich waren, nicht versagt.

Ich habe versucht, eine Uebersicht über verschiedene Bacillen, die teils früher nicht beschrieben worden sind, ferner solcher, welche innerhalb der Subtilis-Mesentericus-Gruppe viele Uebergänge darstellen, zu liefern. Lehmann und Neumann basieren die Bestimmung dieser Arten hauptsächlich auf Kartoffelkulturen. Da nun Kartoffelwachstum nicht selten fehlt, so wird mein Aufsatz zeigen, welche Schwierigkeiten die Bestimmung bieten kann.

Aus der Coli-Gruppe, meistens aus dem Colon isoliert, stelle ich einige Typen auf, die einen kleinen Beitrag zur Variabilität des *Bacterium coli commune* des Rindes bilden. Ferner führe ich einige Varietäten bekannter Bakterien an.

Ferner folgt eine Zusammenstellung der Hauptmerkmale einiger Mikrokokken aus dem Psalter des Rindes. Sie bilden Uebergänge von einem nicht-pathogenen *Micrococcus pyogenes* zum *Micrococcus candicans*.

Endlich habe ich versucht, einzelne neue Bacillen und Bakterien zu beschreiben, die hauptsächlich dadurch ein gewisses Interesse bieten, daß sie ziemlich isoliert im Systeme der Bakterien stehen.

Wenn ich den zweifelhaften Befund des *Bacterium pseudotuberculosis rodentium* und des Coli-Bakterium ausnehme, ist es mir mit meinem Material und meinen Methoden nicht gelungen, irgendwelche pathogene Keime im Psalter und Colon des Rindes nachzuweisen.

Verwandte des *Bacillus parvus* (Meyer et Neide).

Stäbchen, 1—1,5 μ lang, 0,5—0,8 μ breit. Liegen oft zu zweien. Grampositiv. Mittelständige Sporen.

2 Stämme { No. 1.
 { No. 2.

Bei No. 1 kommt keine eigentliche Verflüssigung, nur eine Aufhellung zustande, bei 2 trichterschalenförmige Verflüssigung. Milch wird von No. 1 nicht geronnen, es scheidet sich aber eine rotbräunliche, alkalische Flüssigkeit aus.

No. 2 ruft keine sichtbaren Aenderungen in der Milch hervor, macht sie aber alkalisch. Auffallend ist die nach und nach und nur bei Zimmertemperatur sich einfindende gelbe Verfärbung der Kulturen. Diese Farbstoffbildung ist bei No. 2 stärker ausgeprägt. No. 1 bewegt sich nicht, No. 2 träge. No. 2 zeigt reichlichere Indolbildung und scheint überhaupt ein Stamm von stärkerer Virulenz als No. 1 zu sein.

Besonders No. 2 ist dem *Bacillus parvus*, der im Pferdemist gefunden wurde, nahe verwandt. Doch bewegt No. 2 sich träge und

zeigt auf der Kartoffel kein Wachstum. Ich habe trotz mehrmaligen Versuchen keine Geißeln färben können.

Bacillen aus der Subtilis-Mesentericus-Gruppe.

No. 1. Stäbchen mit abgerundeten Enden. 6—16 peritriche Geißeln. 2—4 μ lang, 1 μ breit.

Agarplatte (15 Stunden): Zarte, graue, bläulich irisierende, seesternenförmige oder runde, gezahnte, gelappte, zerrissene Kolonien, nebst solchen, welche nur aus langen, kolbenartigen Ausläufern bestehen. Zarte, die ganze Platte einnehmende, Auflagerungen kommen auch vor.

Mikroskopisch sind die runden Kolonien fast glattrandig, mit hellen Randzonen. Die Ausläufer sind entweder ganz zart, durchsichtig oder mehr kompakt, mit kolbenartig angeschwollenen Enden. Alle Kolonien sind besonders in der Mitte bräunlich gefärbt mit grauer Punktierung.

Tiefe Kolonien: Dunkel, höckerig, stachelig.

Kartoffelkulturen: Grauer, saftiger, stark wulstig, gefalteter Belag. Die Kartoffel wird rot. Bewegung mäßig. Keine Indol-, schwache Schwefelwasserstoffbildung.

Dieses Stäbchen ist jedenfalls ein naher Verwandter des *Bacillus mesentericus* (ruber) Flügge. Es ist etwas größer als dieser, färbt die Kartoffel rot, ohne selbst gefärbt zu werden. Die verflüssigte Gelatine wird gelb verfärbt, der Agar braun. Die Agarplatte verhält sich mehr *Vulgatus*-ähnlich, ist aber nicht typisch.

Bouillon- und Kartoffelkulturen sind denen des *Vulgatus* ebenso ähnlich wie denen des *Mesentericus*.

No. 2 wie No. 1. Keine Rotfärbung der Kartoffel. Im Agarstich kleine, stachelige Auswüchse. 4—8 peritriche Geißeln. Bewegung lebhaft. Kein Indol.

No. 3 wie No. 2. Kartoffelkulturen werden später braun, nie gefaltet. Sporen nicht ganz mittelständig. Indol wird gebildet. Anaërobie sehr zurückgedrängt. Milch riecht stark nach Emmenthaler Käse. Bewegung lebhaft. Agarplatten wie No. 1.

Dieser *Bacillus* steht dem *Subtilis* und vielleicht dem *Bacillus bernensis* (Burri) näher als dem *Mesentericus*. Feucht glänzender, grauweißer Belag auf Schrägagar und Kartoffel.

No. 4 wie No. 3. Der Schrägagar verhält sich noch mehr *Subtilis*-artig, mit weißen Pünktchen auf dem grauen Belag. Kartoffelbelag grau, gefaltet. Bewegung mäßig. 6—30 peritriche Geißeln. Bessere Aërobie. Kein Indol.

No. 5 wie No. 4. Starker Geruch nach Emmenthaler Käse in Milchkulturen. Indol.

No. 6 wie No. 5. Kein Indol. Trotz reicher Begeißelung doch mäßige Bewegung.

No. 7. 1—4 μ lang, 0,5—0,7 μ breit. 6—12 peritriche Geißeln. Gelatineplatten: Runde, randige, bei der Verflüssigung kurzhaarige Kolonien. Agarplatten wie No. 1.

Kartoffel und Schrägagar: Weißgrauer, nicht gefalteter, feucht glänzender Belag.

Gelatinestich (7 \times 24 Stunden): Trockene, trichter-sackförmige Einsenkung, die von einem grauweißen Saum umgeben ist. 13 \times 24 Stunden: Diese charakteristische Einsenkung setzt sich fort. Oberer Teil des Bandes schickt feine, distal sich abkürzende, parallele Aus-

läufer seitlich aus. 30 × 24 Stunden: Etwas trübe Flüssigkeit auf dem Boden des Sackes.

Dieser Bacillus ist zweifellos ein Anhänger der Subtilis-Mesentericus-Gruppe, aber mit keiner Art innerhalb dieser zu identifizieren.

Im Gelatinestich ist das Wachstum, das sich durch mehrere Versuche konstant zeigte, eigentümlich und vom Mesentericus abweichend.

Bakterien aus der Typhus-Coli-Gruppe.

No. 1. 1 einständige bis 16 peritriche Geißeln. Sehr lebhafte Bewegung. Gelatinekulturen zart, mit ausgeprägten Hahnentrittfiguren. Erträgt Kochhitze während 5 Minuten. Keine Sporen. Keine Pathogenität für Meerschweinchen. Verhält sich im übrigen — Milchkoagulation, Indolbildung, rote Kolonien auf Drigalski-Agar — wie *Bacterium coli commune* und ist nur eine lebhaft bewegliche, reicher begeißelte Varietät desselben.

No. 2. Macht Milch erst nach 18 Tagen gerinnen. Die Milch wird breiartig sauer. Kein Kartoffelwachstum.

Blaue Kolonien auf Drigalski-Agar. Nur 1 Geißel. Nicht pathogen für Meerschweinchen.

Wie No. 1 erträgt auch dieses Coli-Bacterium Erhitzen auf 96° während 5 Minuten. Dieser Versuch ist in folgender Weise ausgeführt worden: Einige Oesen der Kultur werden im Reagensglase mit wenig sterilem Wasser gemischt und das Reagenzröhrchen in siedendes Wasser gebracht, in das es während 5 Minuten eingetaucht wird, um nachher sofort abgekühlt zu werden.

Die erwähnten Mikroben zeigen gegenüber anderen vegetativen Bakterienformen unter solchen Umständen eine bemerkenswerte Resistenz.

No. 3. 8 Geißeln.

Agarplatten: Graue, runde, zarte oder seesternförmig verästelte Kolonien mit kolbenartig angeschwollenen Zweigen, welche hier und da verschmelzen und zarte, gezahnte, gebuchtete Ausbreitungen bilden. Mikroskopisch, Rand ganz, oder rauh, zerrissen. Farbe, bräunlich, mit grob punktierter Mitte, von der punktierte Radialien ausstrahlen. Tiefe Kolonien braun, höckerig.

Mit Ausnahme der Agarplatten zeigt sich No. 3 mit dem *Bacterium coli commune* übereinstimmend.

No. 4. 1—4 Geißeln. Bewegung träge. Agarplatten wie No. 3. Rote Kolonien auf Drigalski-Agar. Indol wird gebildet. Kartoffelkultur kaum sichtbar. Milch wird in 4 Wochen nicht geronnen. In Gelatine, die aus Pferdefleischwasser hergestellt ist, wird eine starke Gasentwicklung sichtbar, welche auf ganz zuckerfreien Nährböden ausbleibt.

Ein intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen stirbt nach 36 Stunden. In den Cavis pleurae und peritonei findet sich ein seröses Exsudat mit einzelnen Fibrinflöckchen. Aus dem Herzblute wird eine Reinkultur von Stamm 4 gezüchtet. Dieses Stäbchen ist durch mehrere Merkmale von dem *Bacterium coli commune* verschieden und leitet durch diese zu der Paratyphusgruppe über. Das verschiedene Verhalten des Stäbchens in Milch und auf Drigalski-Platten ist hervorzuheben.

No. 5. 3—8 Geißeln. Lebhaft beweglich. Milch gerinnt nach 6 Tagen. Agarplatten wie No. 3. Kein Kartoffelwachstum. Kein Indol. Keine

Pathogenität für Meerschweinchen. Im übrigen ist Stamm 5 mit *Bacterium coli commune* identisch.

No. 6. 1—10 Geißeln. Mäßig lebhaft Bewegung. Agarplatten wie No. 3. Häutchen auf Schrägagar-Kondenswasser. Milch gerinnt nach 4 Tagen. Kein Kartoffelwachstum. Luftentwicklung im Gelatine- und Agarstich.

No. 7. 1—4 Geißeln. Bewegung lebhaft. Typische Agarkolonien. Kartoffelwachstum kaum sichtbar. Milch wird erst nach 11 Tagen fest.

Besonders bemerkenswert bei den meisten der genannten Coli-Stämme sind das fehlende oder sehr spärliche Kartoffelwachstum und die unregelmäßigen Agarkulturen.

***Bacterium pseudotuberculosis rodentium* var.**

Aus dem Psalter.

Form ovoid oder rund.

Größe: Die ovoiden Formen sind $0,6 \mu$ breit und $1,2 \mu$ lang, die runden $0,6$ — 1μ im Durchmesser.

Geißeln fehlen.

Färbung gramnegativ. Claudius, schlecht.

Fast keine Anaërobiose. Wachstum am besten bei 37° .

Bouillon wird trübe. Ringbildung an der Oberfläche. Milch gerinnt nach 3 Tagen und ist nach 4 Tagen fest und sauer.

Gelatinestich: Feine Kolonien an der Oberfläche. Im Stichkanal fast kein Wachstum.

Gelatineplatten: Kleine, weißgraue, ganzrandige, runde Kolonien, die unter dem Mikroskop hellbraun erscheinen.

Schrägagar (24 Stunden). Mächtiger, saftiger, weißgrauer Belag. Kondenswasser trübe.

Agarplatten (24 Stunden). Aufliegende Kolonien, weißgrau, erhaben, saftig bis $2\frac{1}{2}$ mm im Durchmesser. Zwischen Agar und Schalenboden, schleierartige Ausbreitungen. Mikroskopisch, ganzrandige, gelbbraune, in der Mitte dunklere, fein punktierte Kolonien.

Tiefe Kolonien, dunkel, rund oder wetzsteinförmig. Einige mit gezahntem Rande, selten mit unregelmäßigen Ausläufern.

Gasentwicklung fehlt.

Kartoffel: Graugelblicher, saftig-glänzender Belag. Die Kartoffel wird nach 14 Tagen etwas bräunlich. Keine Sporen.

Bewegung lebhaft, wie es scheint auf etwas anderem, als auf Geißel-Tätigkeit beruhend.

Indol und Schwefelwasserstoff werden nicht gebildet. Keine Hämolyse.

Agarstich: Weißgraue, üppige Auflagerung. Im Kanale fast kein Wachstum.

Auf schräg erstarrtem Serum tritt keine Verflüssigung ein.

Pathogenität: Eine subkutan geimpfte Maus starb nach 2 Tagen. Aus dem Herzblut derselben ging eine Reinkultur von ovoiden Stäbchen auf. Ein Meerschweinchen wurde intraperitoneal geimpft und — ohne Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben — nach 5 Wochen getötet. In der Leber fand sich ein ovaler, weißgelblicher, käsiger Knoten; daneben mehrere rundliche Knötchen von derselben Beschaffenheit.

Dieser Organismus steht dem *Bacterium pseudotuberculosis rodentium* Pfeiffer nahe, unterscheidet sich von diesem aber durch

- 1) die fehlende Anordnung zu Ketten, die bei dem genannten Stäbchen auch nicht ganz konstant auftritt,
- 2) das üppige Kartoffelwachstum,
- 3) Milchkoagulation, die bei dem *Bacterium pseudotuberculosis rodentium* auftreten kann,
- 4) eine sehr schwache Pathogenität.

***Bacterium turcosum* (Zimmermann) var.**

Aus dem Psalter.

Form: Stäbchen,

Größe: Länge 0,6—2 μ . Breite 0,2—0,3 μ .

Geißel endständig.

Färbung: Nach Gram und Claudius.

Anaërobes Wachstum kümmerlich. Bei 37° viel besseres Gedeihen als bei 20°.

Bouillon wird trübe. Keine Häutchenbildung. Wenig Bodensatz.

Milch gerinnt nicht während 20 Tagen, wird ganz schwach sauer.

Gelatinestich (9 Tage bei 22°): Sparsamer, unregelmäßiger Belag. Im Kanale fast kein Wachstum. Keine Verflüssigung, aber eine trockene, trichterförmige Einsenkung.

Gelatineplatten (8×24 Stunden) graue Punkte. Mikroskopisch runde, glattrandige, gelbbraune Kolonien von 60 μ bis 160 μ Breite.

Schräggagar: Mäßiger, graugelber Belag und einige graugelbe, ganzrandige Kolonien.

Blutagar: Schnelles Wachstum, zitronengelber Belag. Nach 4 Wochen tritt ein sekundärer, orangegelber Streifen auf.

Agarplatten: Feine, weißblaue Kolonien, die mikroskopisch gelbbraunrot, rund ganzrandig sind. Tiefe Kolonien eckig gelappt. Keine Gasentwicklung. Kein Kartoffelwachstum. Keine Sporen. Bewegung lebhaft. Es wird ein wenig Indol, aber kein Schwefelwasserstoff gebildet.

Agarstich nicht charakteristisch.

Serumstich: Trockene, trichterförmige Erweiterung des Stichkanals.

Pathogenität: Keine für Meerschweinchen.

Dieses Stäbchen schließt sich dem *Bacterium turcosum* Zimmermann an, das von Zimmermann im Wasser und von Lehmann und Neumann im Präputialsekret gefunden wurde.

Immerhin unterscheidet sich diese Species von *Bacterium turcosum* durch folgende Merkmale:

- 1) Sie geht zuerst nur auf Serumnährböden auf, später auch auf gewöhnlichen.
- 2) Die Farbstoffbildung ist weniger intensiv,
- 3) die Bewegung ist lebhaft,
- 4) die Kartoffelkulturen sind unsichtbar,
- 5) Die Indolbildung gering.

***Bacterium fulvum* var.**

Bacterium fulvum (Zimmermann). Ich habe einige Male im Colon ein Stäbchen gefunden, das mit dem genannten Bakterium in der Hauptsache übereinstimmt. Es verflüssigt die Gelatine nicht und verändert auch nicht die Milch wie einzelne Stämme von *Bacterium fulvum*.

Es wächst sehr langsam. Die Kolonien sind erst grauweiß, später verfärben sie sich von der Mitte aus gelblich. In StICKkulturen werden nur die aërob wachsenden Teile der Kultur orangegelb gefärbt. Ueberhaupt gedeiht das Bakterium sehr schlecht anaërob. Bei 18° ist das Wachstum sehr langsam, die Farbstoffbildung aber besser als bei 37°. Das Stäbchen ist etwas größer als *Bacterium fulvum*, bis 4 μ lang und von 0,6—0,8 μ breit. In älteren (14 Tage) Kulturen oft kolbenartig angeschwollene Enden, die ein stark gefärbtes Pünktchen enthalten (Diphtheriebacillen). Diese Pünktchen sind nicht säurefest; das Stäbchen geht durch Erhitzung bald zugrunde.

Kokken.

Streptokokken.

Mehrere Streptokokkenstämme habe ich aus dem Psalter, wo sie nicht besonders reichlich vorkommen, isoliert. Man kann *Streptococcus longus* und *Streptococcus brevis* unterscheiden. Da sie in jeder Beziehung, Größe, Milchkultur, Gelatinekultur usw. mit den von Grönning (60) aus dem Darne des Rindes gezüchteten völlig übereinstimmen, unterlasse ich ihre genauere Beschreibung. Sie sind nicht pathogen für Meerschweinchen und Mäuse, machen die Milch nicht gerinnen und verflüssigen Gelatine nicht.

Sarcina.

Eine *Sarcina lutea* habe ich isoliert, die sich durch eine sehr langsame Milchkoagulation auszeichnete. Erst nach 22 Tagen fängt die Gerinnung an. Die Gelatineverflüssigung trat erst nach 5—6 Wochen mit schalenförmiger Einsenkung ein.

Mikrokokken.

No. 1 stimmt morphologisch wie biologisch mit dem *Micrococcus pyogenes albus* (Rosenbach) überein, ist aber nicht pathogen. 2—3 cm 48 Stunden alter Bouillonkultur lassen sich Meerschweinchen subkutan einimpfen, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

No. 2 bildet zitronengelben Farbstoff. Form rund. Breite 0,7 bis 0,8 μ . Sackförmige Verflüssigung der Gelatine. Milch wird nicht geronnen, nur schwach angesäuert. Die subkutane Verimpfung auf Meerschweinchen bleibt wirkungslos.

Diesen Coccus könnte man als einen *Micrococcus pyogenes citreus* ohne Milchkoagulation und Pathogenität betrachten.

No. 3. Marmorweiße Kulturrasen. Breite 0,8—1 μ . Keine Verflüssigung der Gelatine. Kein Milchgerinnung. Keine Pathogenität.

Steht dem *Micrococcus candicans* Flügge sehr nahe und näher als dem *Micrococcus pyogenes*.

No. 4. Gelblichweiße Kulturrasen. Der Schrägagarbelag ist erst marmorweiß, später gelblich. Seine Form ist rund, seine Breite beträgt 0,8—1 μ . Keine Verflüssigung der Gelatine. Keine Gerinnung, schwache Säuerung der Milch. Zartes Kartoffelwachstum.

Dieser Coccus muß auch in die Nähe des *Micrococcus candicans* gestellt werden, ist jedoch kleiner als dieser (1,2 μ) und von schwachgelblicher Farbe. Dem *Micrococcus sulfureus* steht er ferner.

No. 5. Erst weiße, später orange Kulturrasen. Identisch mit dem *Micrococcus auranticus* Cohn.

No. 6. Kultur weißgrau oder rein weiß. Korn rund. Breite 1 μ . Bouillon bleibt klar. Sonst stimmt dieser Coccus ganz mit dem Micrococcus candicans Flügge überein.

Bis jetzt unbekannte Bakterien.

Bacterium psalterii 1 (nov. sp.).

Aus dem Psalter.

Form rund oder oval. Oft in Ketten.

Größe: Länge 0,6–2 μ . Breite 0,5–0,8 μ .

Geißel zweifelhaft. Einige Male meine ich, doch eine endständige, selten mittelständige Geißel gefärbt zu haben.

Gram- und Claudius-Färbung positiv.

Das Stäbchen geht aërob besser auf und wächst nur bei 37°.

Bouillon diffus trübe. Keine Hautbildung. Wenig Bodensatz.

Milch wird gerinnt in 48 Stunden und ist nach 72 Stunden ganz fest. Schwache Säuerung. Das Koagulum in 15 Tagen nicht wieder gelöst.

Gelatinestich: Kein Wachstum.

Gelatineplatten: Kein Wachstum.

Agarplatten: Aufliegende Kolonien weißgrau, rund, wenig erhaben. Mikroskopisch rauhrandig, grob punktiert, gelbbraun. Tiefe Kolonien dunkelbraun, wetzsteinförmig, eckig, rund, lappig, gefurcht oder zerrissen.

Gasentwicklung fehlt. Kein Kartoffelwachstum. Keine Sporen. Mäßige Bewegung.

Indol und Schwefelwasserstoff werden nicht gebildet. Auf blutkörperchenhaltigem Serum findet eine geringe Hämolyse statt.

Pathogenität: Bei Kaninchen entsteht eine Temperaturerhöhung und ein Abszeß.

Für diesen, nur bei Körpertemperatur wachsenden, schwach pathogenen Mikroorganismus finde ich im Systeme keine Verwandten.

Am ehesten hat er Beziehung zum Bacterium lactis viscosi. Von diesem Stäbchen ist er aber auch sehr verschieden. Es scheint mir ebenfalls unmöglich, diesen Mikroben mit dem Streptococcus acidilactici zu vereinigen.

Bacterium psalterii 2 (nov. sp.).

Aus dem Psalter.

Größe: Länge meist 3 μ , von 1 μ bis 10–15 μ . Breite von 0,2–0,4 μ .

Geißel endständig.

Färbung positiv nach Claudius, negativ nach Gram.

Anaërob wächst das Stäbchen kümmerlich und nur auf Zuckernährböden. Aërob bei 37° üppiges Wachstum, bei 18° sehr langsames.

Bouillon wird trübe. Graues Häutchen und grauer Bodensatz.

Milch: Keine Gerinnung, keine Säurebildung.

Gelatinestich: Graue Auflagerung. Im Kanale ein zarter Faden, daneben Knötchen. Bisweilen kommt eine sehr langsame Verflüssigung vor, bisweilen nicht.

Gelatineplatten (3×24 Stunden): Graue Punkte, die mikroskopisch braun, glattrandig, durchscheinend erscheinen und oft in konglomeratartigen Haufen auftreten. Einige Kolonien oval, viele mit glänzender, granulierter Oberfläche. Nach 4×24 Stunden ist eine Auf-

20*

hellung um die Kolonien bemerkbar, die in Verflüssigung übergeht. Der Rand ist dann gekerbt oder trägt kurze Fortsätze, und nach und nach lösen sich die Kolonien ganz auf. Immerhin bleibt die Verflüssigung oft aus.

Schräggagar: Dünner, weißer, breiter, etwas bläulicher Strich.

Blutagar: Gutes Wachstum. Keine Hämolyse.

Keine Gasentwicklung. Kein Kartoffelwachstum. Keine Sporen. Bewegung auch nach 3—4 Monaten sehr lebhaft. Es wird Schwefelwasserstoff, aber kein Indol gebildet. Agarstich nicht charakteristisch. Serumstich zeigt fast nur Oberflächenwachstum und keine Verflüssigung des Serums.

Pathogenität für Mäuse zweifelhaft. 2 Mäuse sind gestorben, aber mit mehreren Bakterienformen im Blute. Für Kaninchen und Meer-schweinchen keine Pathogenität. Dieses Stäbchen gehört wahrscheinlich in die Nähe des *Bacterium salmonicida* Emmerich und Weibel, dem Bakterium einer Forellenseuche, und doch ist es durch sozusagen alle biologischen Merkmale von diesem Bakterium verschieden. Eine bessere Verwandtschaft finde ich aber nicht.

***Micrococcus psalterii* 1 (nov. sp.).**

Aus dem Psalter.

Form rund oder oval. In jungen Kulturen sind fast alle Individuen rund und liegen in Haufen.

Größe 0,8—1 μ im Durchmesser oder 0,8 μ breit, 1,2 μ lang.

Geißel: Ich meine, einige Male eine endständige Geißel gefärbt zu haben, doch betrachte ich dies als zweifelhaft.

Gram- und Claudiusfärbung positiv.

Anaërobiose schwach, wächst besser aërob. Bei 37° üppiges Gedeihen, zwischen 10 und 20° findet kein Wachstum statt. Bouillon wird trübe. Kein Häutchen, reichlicher, fadenziehender Bodensatz.

Während 4 Wochen wird Milch nicht geronnen, aber schwach sauer.

Gelatinestich (9×24 Stunden) zarte, graue, rundliche Auf-lagerung, fängt an schalenförmig einzusinken. Im Kanale eine mäßige Anzahl von grauen Knötchen.

Nach 11×24 Stunden bei 22° schlauchförmige Verflüssigung. An der Oberfläche befindet sich ein weißgraues Häutchen, weißgraue Krümelchen schwimmen in der Flüssigkeit umher und auf dem Boden liegt eine weiß-graue, krümelige Masse.

Gelatineplatten 7×24 Stunden bei 22° graue Pünktchen. Mikroskopisch dunkel, mit rauhem, selbst stacheligem Rande, von 140 bis 200 μ Breite. Keine Verflüssigung. Tiefe Kolonien wie aufliegende.

Schräggagar: Zarter, grauweißer, blau irisierender, flacher, matter Belag mit unregelmäßigen dichteren Flecken. Kondenswasser enthält reichlichen, fadenziehenden Bodensatz.

Agarplatten (15 Stunden): Rundliche, grauweiße Kolonien. Mikroskopisch rund, glattrandig, gelbbraunlicher von 300—400 μ im Durchmesser. Tiefe Kolonien nicht charakteristisch. Nach 3×24 Stunden sind die aufliegenden Kolonien saftig erhaben. Mikroskopisch zeigen sie sich braun punktiert. Zwischen Agar und Schalenboden finden sich zarte, granulierte Kolonien.

Keine Gasentwicklung. Auf Kartoffel kein Wachstum. Keine Sporen. Nach Erhitzen auf 70° während 15 Minuten sind alle Individuen getötet.

Auch nach 6 Wochen finden mäßige Bewegungen statt.

Indol wird nicht gebildet, dagegen mäßige Mengen von Schwefelwasserstoff.

Agarstich: Ueppiges Oberflächenwachstum. Im Kanale uncharakteristisches Band.

Serum wird nicht verflüssigt.

Keine Pathogenität für Meerschweinchen.

Es ist schwer, zu entscheiden, ob dieser Organismus zu den Kokken oder zu den Bakterien zu rechnen ist.

Unter den Kokken zeigt er wohl mit dem *Micrococcus pyogenes* gewisse Aehnlichkeiten, die Abweichungen sind aber gar zu groß, um ihn unter dieses Genus einzuschieben.

Als Bakterium ist er noch schwieriger an bekannte Formen anzugliedern, und er läßt sich nur mit Gewalt in die Gruppe *Discoformans punctatum* bringen.

Somit steht dieser Organismus ziemlich isoliert im Reiche der Bakterien.

***Bacillus intestinali* 1 (nov. sp.).**

Aus dem Colon.

Form: Abgerundete Enden.

Größe: 1,5 μ lang, 0,6 μ breit.

Geißeln 1—8, öfters 6—7, in peritricher Anordnung.

Färbung: Gram und Claudius entweder sehr schlecht oder gar nicht.

Anaërobiose: Wächst in hoher Agarschicht nur bis zu 2 mm unter der Oberfläche. Bei 37° ist das Wachstum ganz üppig, bei 18° sehr mäßig.

Bouillon wird trübe. Keine Häutchenbildung. Wenig fadenziehender Bodensatz.

Milch: Nach 8×24 Stunden fängt die Milch an zu gerinnen, das Koagulum ist nach 10 Tagen fest. Später tritt eine Lösung des Koagulums ein, die jedoch nie vollständig wird. Molke trübe, alkalisch oder amphoter. Käsegeruch.

Gelatinestich (4×24 Stunden) rundliche, gebuchtete, flache, weißgraue Auflagerung, die einzusinken anfängt. Im Kanale schleierartiges, distal spitzes Band. 11×24 Stunden: Verflüssigung setzt sich schalenförmig fort und folgt später der Glaswand. Auf der gelben Flüssigkeit ruht ein Häutchen; in derselben schwimmen zarte Wolken umher.

Gelatineplatten (3×24 Stunden): Die aufliegenden Kolonien sind rund oder sternförmig, unregelmäßig, zart, bläulich fluoreszierend, grau. Mikroskopisch erschienen sie oft Coli-artig, weinblattähnlich, gelb, dunkelpunktiert, hier und da radiär gestreift, mit hellen Rändern. Die tiefen Kolonien sind rund, randig, bräunlich. 5×24 Stunden: Aufliegende Kolonien in tiefen Verflüssigungsschalen, tiefe Kolonien von hellen Zonen umgeben.

Schrägagar (20 Stunden): Zarter grauer Belag. Kondenswasser trübe. 14×24 Stunden: Saftiger, butterweicher, glänzender Belag. Eine Haut auf dem trüben Kondenswasser.

Agarplatten zarte graue, bläulich irisierende, sternförmige oder runde, gezahnte, gelappte, zerrissene oder nur aus langen Ausläufern bestehende Kolonien nebst zarten, die ganze Platte einnehmenden Auflagerungen. Mikroskopisch die runden Kolonien fast glattrandig, mit

hellen Randzonen, die sternförmigen, unregelmäßigen Kolonien mit kolbenartig angeschwollenen, dunkleren oder zarten, durchsichtigen Ausläufern. Alle Kolonien sind etwas bräunlichgrau. Tiefe Kolonien höckerig, stachelig oder konglomeratartig.

Keine Gasentwicklung. Kein Kartoffelwachstum.

Sporen werden gebildet und sind gewöhnlich $1\ \mu$ lang, $0,6-0,7\ \mu$ breit; sie lagen alle frei.

In 20 Stunden alten Kulturen ist die Bewegung lebhaft, nach 21×24 Stunden wird sie träge.

Es wird Schwefelwasserstoff, aber kein Indol gebildet.

Agarstich üppiges, graues Oberflächenwachstum. Nicht charakteristisches Band im Stichkanale.

Serum wird langsam verflüssigt.

Keine Pathogenität für Meerschweinchen.

Dieser *Bacillus* scheint verschiedene Merkmale des *Subtilis*, des *Vulgatus* und des *Mesentericus* in sich zu vereinigen. Er ist aber nicht identisch mit irgendeinem von diesem Stäbchen. Ich habe unter den beschriebenen Bacillen überhaupt keinen finden können, der mit meinem Organismus identisch sein könnte, er gehört aber wohl zweifellos zu der Gruppe *Subtilis-Mesentericus*.

***Bacillus intestinalis* 2 (nov. sp.).**

Aus dem Colon.

Form: Plumpes Stäbchen, bisweilen ganz rund.

Größe meist $1,2\ \mu$ lang, $0,7-0,8\ \mu$ breit, oder $1\ \mu$ im Durchmesser.

Die Länge erreicht bisweilen $5\ \mu$, die Breite $1\ \mu$. Die größten Stäbchen fand ich besonders in den tiefen, grob punktierten Agar-kolonien.

Geißeln peritrich, 4 bis 8. Einige, meist kleine Individuen haben nur eine endständige Geißel.

Färbung mit Gram-Claudius positiv.

Wachstum: Besser aërob und besser bei 37° als bei 18° .

Bouillon bleibt klar. Keine Häutchenbildung. Wenig fadenziehender Bodensatz.

Nach 4 Wochen keine Gerinnung der Milch, die amphoter bleibt oder schwach sauer wird.

Gelatinestich (6×24 Stunden): Runde, gebuchtete, mäßig erhabene, weißgraue Auflagerung mit konzentrischen Streifen. Band uncharakteristisch, spitzt sich stark zu. Selbst nach 40×24 Stunden findet keine Verflüssigung statt.

Gelatineplatten (9×24 Stunden): Grauweiße, flache, runde oder rundliche, aufliegende Kolonien. Mikroskopisch ganzrandige, braune, auch einige lappige Kolonien mit radiären Streifen. Tiefe Kolonien meist rund, glattrandig, dunkel. Keine Verflüssigung.

Schrägar (24 Stunden): Weißgrauer, wenig erhabener, glänzender Belag dem Striche entlang. Nach 7×24 Stunden keine Hautbildung.

Agarplatten (2×24 Stunden): Die aufliegenden Kolonien sind grauweiß, mäßig erhaben, rund. Mikroskopisch erscheinen sie ganzrandig, bräunlich, dunkel punktiert mit hellen Rändern.

Breite bis 3 mm. Kolonien zwischen Agar und Schalenboden zart, grob punktiert.

Tiefe Kolonien dunkel, oft höckerig.

Keine Gasentwicklung. Kein Kartoffelwachstum.

Sporen mittelständig, oval, $1,5 \mu$ lang, $0,7-1 \mu$ breit.

Bewegung sehr träge.

Indol und Schwefelwasserstoff werden nicht gebildet.

Agarstich nicht charakteristisch.

Für Meerschweinchen nicht pathogen.

Dieser Bacillus stimmt mit keinem der beschriebenen Bacillen so gut überein, daß eine Identifizierung gerechtfertigt erscheint.

Vielleicht muß er in die Nähe des *Bacillus parvus* gestellt werden.

Bacillus intestini 3.

Aus dem Colon.

Form: Stäbchen mit abgerundeten Enden.

Größe: Länge $1-4 \mu$, Breite $0,5 \mu$.

Nach Gram oder Claudius färbt es sich nicht.

Geißeln öfters peritrich, 3 bis 8.

Wachstum besser aërob und besser bei 37° als bei 18° .

Bouillon wird trübe. Bröckelige Haut und reichlicher, krümeliger Bodensatz.

Während 4 Wochen wird Milch nicht recht geronnen, es entsteht aber ein etwas festsitzender Bodensatz im Reagenzglaschen. Die überstehende Milch ist ganz unverändert, wird aber immerhin mäßig sauer. Nach 6 Wochen ebenso.

Gelatinestich (20 Stunden): Unregelmäßige, graue Auflagerung. Im Kanale ein kräftiges Band.

(16×24 Stunden): Auflagerung stark gefaltet.

(34×24 Stunden): Feine, seitliche Auswüchse im oberen Teile des Bandes.

Gelatineplatten (9×24 Stunden): Graue Punkte. Mikroskopisch runde, randige Kolonien. Die Randzone scharf markiert als dunkler Ring. Oft ist radiäre Streifung vorhanden. Der erwähnte Ring fehlt bei einigen Kolonien, deren Randzonen fein gewellt und ganz schwach gezahnt sind.

Schrägar (24 Stunden und 7 Tage): Grauer, feuchtglänzender Belag mit wellig erhabenen Rändern dem Striche entlang.

Agarplatten (15 Stunden): Rundliche, flache, grauweiße, bläulich irisierende, weiche Kolonien nebst ganz unregelmäßigen gefransten Flecken. Mikroskopisch: Die rundlichen Kolonien sind gelbbraunlich, durchschimmernd, glattrandig mit gekörnter Mitte und heller Randzone. Die gefransten Flecken haben kolbenartig angeschwollene, zarte Ausläufer. Zwischen Agar und Schalenboden finden sich zarte, grob punktierte, rundliche Kolonien. Die tiefen Kolonien sind rund, oval, wetzsteinförmig.

Reichliche Gasentwicklung auf Zuckernährböden.

Kein Kartoffelwachstum.

Sporen habe ich trotz mehrmaliger Versuche nie färben können, da aber Erhitzen auf 96° während 15 Minuten nicht imstande ist, die Organismen zu töten, müssen voraussichtlich doch Sporen vorkommen.

Bewegung mäßig.

Indol und Schwefelwasserstoff werden in reichlicher Menge gebildet.

Agarstich nicht charakteristisch.

Keine Pathogenität für Meerschweinchen.

Dieser *Bacillus* steht ziemlich isoliert. Unter den beschriebenen Bakterien finde ich keinen, in dessen Nähe ich dieses Stäbchen stellen könnte. Mit dem von mir beschriebenen *Bacillus enteritidis* 4 zeigt er einige Aehnlichkeiten. *Bacillus enteritidis* 3 trägt — sehr spät — Aestchen im Gelatinestich und ist durch das Verhalten der Agar-, Milch- und Kartoffelkulturen von No. 4 verschieden.

***Bacillus intestini* 4.**

Aus dem Colon.

Form: Stäbchen mit abgerundeten Enden.

Größe: Meistens 1,5—2 μ lang, 0,5 μ breit, doch schwankt die Länge von 1—4 μ , die Breite von 0,5—1 μ .

Geißeln meist peritrich, 2 bis 8.

Entfärbung nach Gram und Claudius.

Anaërob geht das Stäbchen fast ebenso gut auf wie aërob. Bei 37° ist das Wachstum am besten, bei 18° gut.

Bouillon wird trübe. Bröckelige Haut, und erst fadenziehender, später krümeliger Bodensatz.

Milch wird dickflüssig, nach 5×24 Stunden breiartig. Nach 20×24 Stunden wird wenig trübe Molke ausgeschieden. Reaktion mäßig sauer.

Gelatinestich (20 Stunden): Zarte, graue, gebuchtete Auflagerung. Kräftiges graues Band im Stichkanale. Nach 6×24 Stunden findet von der Mitte des Bandes aus in Gelatine aus Pferdefleischwasser eine kräftige Gasentwicklung statt. Diese fehlt auf völlig zuckerfreien Nährböden.

Nach 10 Tagen ist die Auflagerung stark erhaben und selbst nach 2 Monaten tritt keine Verflüssigung ein.

Gelatineplatten (4×24 Stunden): Weißgraue, runde, mäßig erhabene Kolonien, die mikroskopisch braungrau, ganzrandig erscheinen. Randzone oft mit mehreren konzentrischen Ringen.

Tiefe Kolonien sind öfters glänzend und granuliert. Nach (33×24 Stunden) keine Verflüssigung.

Schrägar: Mäßig üppiger, feuchtglänzender, grauer Belag. Im Kondenswasser grauer Bodensatz. Nach 7×24 Stunden das Gleiche.

Agarplatten: Rundliche, graue, zarte Kolonien, oft sternförmig verästelte mit kolbenartig angeschwollenen Zweigen, welche gelegentlich verschmelzen und zarte, gezahnte, gebuchtete Auflagerungen bilden. Mikroskopisch sind die rundlichen Kolonien bräunlich, ganzrandig, häufig mit ringförmigen Zeichnungen. Die unregelmäßigen Kolonien erscheinen ebenfalls bräunlich mit einer grob punktierten Mitte und ebenso beschaffenen Rändern. Die Ränder sind hell, glatt oder stark eingerissen. Die tiefen Kolonien sind höckerig.

Es kommt zu einer reichlichen Gasentwicklung auch auf Agar ohne besonderen Zuckerzusatz. Die Reaktion ist sauer. Kartoffelwachstum sehr schwach. Eine zarte, gelbgraue Schicht auf der Mitte der Kartoffel.

Sporen oval, mittelständig. Länge 1,2—1,5 μ , Breite 0,8—1 μ . Sie ertragen das Kochen während 15 Minuten.

Bewegung auch nach 5 Wochen mäßig lebhaft.

Schwefelwasserstoff, aber kein Indol wird gebildet.

Serum wird nicht gelöst.

Für Meerschweinchen nicht pathogen.

Dieses Stäbchen ist ein gramnegativer Bacillus. Ich finde unter den bekannten Bacillen keinen, mit welchem mein Stäbchen identisch sein dürfte. Eine gewisse Aehnlichkeit mit *Bacillus intestini* 3.

Bacillus intestini 5.

Aus dem Colon.

Form: Stäbchen mit abgerundeten Enden.

Größe: Gewöhnlich 2,5—3 μ lang, 0,6—0,8 μ breit. Die Länge schwankt zwischen 1 und 25 μ .

Geißeln 6—8, peritrich.

Gram- und Claudiusfärbung positiv.

Geht aërob besser als anaërob auf. Bei 37° ist das Wachstum gut, bei 18° nur kümmerlich.

Bouillon wird trübe. Am 6. Tage ist eine bröcklige Haut gebildet. Bodensatz zeigt sich erst fadenziehend, später krümelig.

Die Gerinnung der Milch setzt mit dem 6. Tage ein, nach 10 Tagen ist das Koagulum fest, die ausgeschiedene Molke gelblich trübe. Es findet eine sehr mäßige Säuerung statt.

Gelatinestich. (6×24 Stunden): Grauweiße, zarte Kolonien an der Oberfläche. Im Kanale zartes Band. Um den oberen Teil des Bandes bilden sich feine Auswüchse und Knötchen, die eine erst zylindrische, später umgekehrt kugelförmige Trübung erregen. Keine Verflüssigung. Unterhalb der erwähnten Gebilde entstehen dem Bande entlang feine seitliche Aestchen.

Selbst nach 2 Monaten kommt keine Verflüssigung zustande.

Gelatineplatten (5×24 Stunden): Runde grauweiße Kolonien.

Mikroskopisch glattrandig, braungelb, bis 5—600 μ breit. Nach 9 Tagen setzt eine mäßige Verflüssigung ein.

Schrägar: Grauweißer, schwach glänzender Belag dem Striche entlang.

Agarplatten (24 Stunden): Zarter, grauer, schleierartiger Belag. In der Tiefe rundliche, graue Kolonien mit hellen, bläulich irisierenden Rändern. Mikroskopisch ist der Belag bräunlich, grau punktiert und geht ohne Grenzen in die Umgebung über. Es kommen auch ziemlich scharf, aber unregelmäßig begrenzte Flecken vor neben rundlichen, rauh-randigen, zerrissenen Kolonien.

Tiefe Kolonien oft höckerig.

Keine Gasentwicklung. Die Kartoffel wird an der Oberfläche graugelblich, glänzend. Auf dem Wasser bildet sich eine graue Haut. Später wird die Kartoffel gelblich.

Mittelständige ovale Sporen 1,5 μ lang, 0,6—0,8 μ breit.

Bewegung ist außerordentlich lebhaft.

Schwefelwasserstoff wird gebildet, dagegen kein Indol.

Agarstich nicht charakteristisch.

Keine Pathogenität für Meerschweinchen.

Dieses Stäbchen ist wie *Bacillus intestini* 3 ein Bacillus mit Aestchen im Gelatinestich und scheint mir keine Verwandtschaft mit den bisher beschriebenen Bacillen zu besitzen.

Schlußbetrachtung.

Zum Schlusse dürfte es wohl angemessen sein, den Versuch einer Erklärung zu machen, weshalb im Psalter- und Coloninhalt des Rindes pathogene Bakterien in einer wider alles Erwarten geringen Zahl zu finden sind.

Es war anzunehmen, daß das *Bacterium pyogenes*, *Corynebacterium necrophorus*, *renalis bovis* und *abortus Bang*, den *Proteus* (*Bacterium vulgare*), in zweiter Linie *Bacillus oedematis maligni* und *tetani* ziemlich konstant im Darne anzutreffen wären, da die von den genannten Mikroben erregten Rinderkrankheiten doch sehr häufig sind.

Eine ähnliche Ueberlegung bezieht sich auf *Bacillus botulinus* (van Ermengem) und *Bacterium enteritidis Gärtneri*, welche Fleischvergiftungen veranlassen. Diese kommen trotz der vielen hygienischen Maßnahmen gar nicht selten vor und werden meistens durch die beiden Mikroorganismen verursacht, von denen man ebenfalls annehmen könnte, daß sie gelegentliche Darmbewohner seien.

Olt (64) hat — wie früher erwähnt — das ständige Vorkommen von *Bacterium pyogenes* in der Maulhöhle des Rindes nachgewiesen. Bang (56) — weniger überzeugend auch van Velzen (49) — zeigte, daß *Corynebacterium necrophorus* im Darminhalte des Schweines zu finden ist. *Bacillus tetani* und *oedematis maligni* konnte Neubauer (29) trotz umfassender anaërober Zuchtungsversuche nie im Rinderdarm finden. Daß die genannten Bacillen aber doch häufig dort vorkommen, behauptet Kitt (57).

Von Bang (72) und Zwick (73) ist dargetan worden, daß eine Abortusinfektion durch Fütterung mit infektiösem Material leicht hervorgerufen werden kann. Dies spricht gegen das ständige Vorkommen von Abortusbakterien im normalen Darmtraktus. Kämen diese Bakterien bei allen — oder fast allen — Rindern vor, dann müßten auch alle Kühe von dieser Krankheit befallen sein, aber so schlimm ist es denn doch nicht. Noch lassen sich die Bestände in solche, die von Abortus angesteckt sind und in verschonte scheiden.

Wird eine Kuh aus einem nicht infizierten Bestande in einen durchseuchten eingestellt, so wird sie ganz sicher der Krankheit zum Opfer fallen.

Da Zwick (73) durch Fütterungsversuche gezeigt hat, daß die Anwesenheit des Abortusbakterium im Darmkanale ausreicht, um eine Bildung von Immunstoffen zu veranlassen, und da Holth (74) nur bei 19 Proz. von 154 Stieren solche Stoffe nachweisen konnte, so beweisen auch diese Tatsachen, daß die betreffenden Bakterien nicht ständig im Darmtraktus vorkommen.

Es wäre immerhin denkbar, daß gelegentlich der Nachweis von *Corynebacterium abortus* im Verdauungstraktus gelingen würde, denn daß die Verdauungswege die weitaus häufigste Eingangspforte des Bakteriums bilden, ist nach Holth, der vergeblich nach Abortusbakterien im Praeputium und in der Vesicula seminalis des Stieres fahndete, wenigstens wahrscheinlich. Aber es wäre fast aussichtslos, Abortusbakterien aus dem Bakteriengemische des Darmes isolieren zu wollen, ja, selbst durch Impfungsversuche könnte man kaum auf Erfolg rechnen.

Nach Lehmann und Neumann (69) soll *Bacterium vulgare* (*Proteus*) im Darmkanale vorkommen, und Heinick (23) hat es im Darne des Schweines gefunden. Mir entging diese Species. Kempner und Pollack (75) fanden einmal den *Bacillus botulinus* im Schweinekot, sonst ist dieser *Bacillus* nach Kitt (57) in der Natur wenig verbreitet.

Bacterium pyogenes, *Corynebacterium renalis* und *abortus bovis* und *Bacterium enteritidis Gärtner* sind bisher

ebenso wenig von anderen wie von mir im Darminhalt nachgewiesen worden. Einige Male gelang der Nachweis von schwach pathogenen Strepto- und Mikrokokken. Ich erinnere daran, daß ich einige Male säurefeste Stäbchen im Psalterinhalte angetroffen habe, sowohl schlanke, tuberkelbacillenähnliche, wie auch plumpere Formen, und daß mehrere Bearbeiter dieses Themas Aehnliches erwähnen. Ob es sich hier um Tuberkelbacillen, um Pseudotuberkelbacillen oder um die in der Natur so weit verbreiteten saphrophytisch vegetierenden säurefesten Stäbchen handelt, ist natürlich ohne Versuche, die ich unterließ, nicht zu entscheiden; die Wahrscheinlichkeit spricht für die letztgenannten Arten.

Alle soeben erwähnten, pathogenen Mikroorganismen gehören demnach kaum zu der obligaten Darmflora.

Bacterium pyogenes, *Corynebacterium renalis bovis*, *abortus Bang*, *Bacterium enteritidis* Gärtner und *Mycobacterium tuberculosis* sind nie im Darme gefunden worden.

Die übrigen oben erwähnten Species kommen gelegentlich im Darminhalte vor, und ihre Menge ist hier und da groß genug, um einen Isolierungsversuch möglich zu machen. Doch wird dieses Ergebnis nur als besonders glücklicher Zufall zu gelten haben. Ist die Individuenzahl einer Species mäßig oder klein, so mißlingt der Nachweis, und so ist es erklärlich, daß ich im Psalter- und Coloninhalt von 20 Rindern diese Mikroben nicht zu finden vermochte. Bezüglich des Colons kommt ein unten zu erwähnender Umstand noch in Betracht.

Ueberhaupt erscheint es mir wahrscheinlich, daß pathogene Mikroorganismen im Darminhalte kaum in anderer Weise als durch umfassende Impfungsversuche zuverlässig nachzuweisen sind.

Eine kurze Erörterung verdient ferner die Tatsache, daß im Darmkanal eine Schädigung und selbst eine Vernichtung von zufällig eingeführten, saphrophytischen und pathogenen Keimen stattfindet. Einige Forscher haben diese Erscheinung auf die Wirkung der Magensäure und die „Autosterilisation“ des Dünndarms [Kohlbrugge (36), Neubauer (27)], andere auf den Antagonismus der obligaten Darmflora [Bienstock (27), Mereschowsky (40)] gegenüber den zufälligen Eindringlingen, wieder andere auf bakterizide Wirkungen der Gewebs-elemente [Schütz (28)] zurückgeführt.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß viel Mikroorganismen im Magen [Ankersmit (25)] zugrunde gehen, aber ebenso sicher ist es, daß auch viele, so z. B. nach Schütz auch der sonst wenig widerstandsfähige *Vibrio Metschnikoffi* imstande sind, der Wirkung der Magensäure zu widerstehen, und daß dieselben erst in hinteren Darmabschnitten vernichtet werden. Das ständige Vorkommen von wenig resistenten Bakterien im Dickdarm zeigt das mit aller Deutlichkeit, indem es fast ausgeschlossen ist, daß diese Mikroorganismen durch den Anus, entgegen der Peristaltik, einwandern.

In der Hauptsache vermehren sich, wie mehrere Forscher dargetan haben, die zufälligen Mikroben im Dickdarm und noch stärker im Mastdarm, trotzdem in diesen Darmabschnitten ein ausgesprochener Antagonismus zwischen ihnen und dem *Bacterium coli* denkbar ist. Diese Tatsache mißt dem genannten Antagonismus nur eine mäßige Bedeutung zu, beweist aber nicht, daß dieser im Dickdarm gar keine Rolle spielt. Es besteht im Darm geradezu ziemlich wahrscheinlich doch ein Antagonismus zwischen *Coli*- und anderen Bakterien, ähnlich demjenigen Verhältnis, das außerhalb des Organismus im Reagensröhrchen mit

Leichtigkeit nachzuweisen ist. Ich erinnere auch an die Versuche Lembkes (70), der durch Verfütterung von verschiedenen Bakterienarten das bestimmte Vorkommen eines solchen Antagonismus zwischen verschiedenen Darmbakterien dargetan haben will.

Die Hauptsache ist aber, daß die Bakterien ganz wie das vegetabilische Futter im Darmkanale gelöst und resorbiert, somit regelrecht verdaut werden. Die Magensäure löst einige, der Darmsaft andere, und einem Rest gelingt es, wie auch einem Rest Futter, unverändert von der Verdauungsflüssigkeit, den ganzen Darmtraktus zu durchwandern.

Zu den letzteren gehören zunächst die Sporen, deren Resistenz doch großen Schwankungen unterworfen ist. N.B. Bienstocks (27) Versuche mit *Bacillus putrificus* — aber auch vegetative Formen können hier und da genügende Widerstandsfähigkeit besitzen, um unbeschädigt die hinteren Abteilungen des Dickdarms zu erreichen, oder sie werden durch die Ingesta so eingehüllt und geschützt, daß sie in dieser Weise der Verdauung entgehen.

Besondere Berücksichtigung verdient als Bestandteil der Galle das taurocholsaure Natron. Wie schon längst bekannt, löst dasselbe vegetative Formen, wie den *Streptococcus lanceolatus* und *mucosus*, aber nicht *pyogenes* auf.

Wenn Buchner (76) aus einigen Mäuseversuchen schließt, daß auch die Milzbrandsporen im Darmkanale vernichtet werden, so ist dies nach Untersuchungen von verschiedenen Forschern, z. B. Kitt (57), Huttyra (71) und neuerdings Mollet (77), sicher nicht berechtigt. Es ist gleichfalls sehr unwahrscheinlich, daß die Sporen des Tetanus und des malignen Oedems im Magen und Dünndarm zerstört werden, wie Neubauer (29) annimmt.

Die Mißerfolge des Letzteren scheinen mir auf dem Umstande zu beruhen, daß seine Versuchstiere entweder gar nicht oder nur vereinzelt solche Sporen beherbergten. Hätte er anstatt des Dünndarms den Pansen, die Haube oder den Psalter zu seinen Isolierungsversuchen benutzt, so wäre sein Resultat wahrscheinlich dasselbe gewesen. Nehme ich an, daß im Darmkanal eine fortschreitende Verdauung und Resorption der Bakterien wie des Futters stattfindet, so bin ich vorzüglich imstande, zu erklären, wie Schütz' Vibrionen erst im Anfang des Colons ganz verschwinden und wie die fakultative Darmflora in den hinteren Abteilungen des Dickdarms wieder zu gedeihen beginnt. Die Vibrionen werden nach und nach verdaut, bis sie im Anfang des Colons ganz aufgelöst und resorbiert sind, und andere zufällige Mikroben, welche durch ihre Resistenz oder durch die Schutzwirkung der Ingesta in die hinteren Abteilungen des Dickdarms gelangen, werden an diesem Orte, wo keine auflösende Darmflüssigkeit mehr ausgeschieden und von oben nachrückende Säfte resorbiert werden, jetzt angemessene Bedingungen finden, um sich zu vermehren.

Aber warum werden nicht auch die Coli-Bakterien verdaut? Dies beruht auf einer Arteigentümlichkeit derselben, sowie es auch Bakterien gibt, die in heißen Quellen gedeihen. Aber auf die Frage, worin die innigen Beziehungen zwischen einem Organismus und seiner Umgebung bestehen, ist es nicht möglich, näher einzugehen.

Wenn ich im Colon des Rindes keine pathogenen Keime finden konnte, so hatte vielleicht die Verdauung zur Beseitigung allfälliger Einwanderer beigetragen.

Vorliegende Arbeit wurde in dem veterinär-pathologischen Institut der Universität Bern auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Guillebeau ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Guillebeau für die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung derselben meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Leeuwenhoek, erwähnt von Escherich. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1.)
- 2) Wagner, Handwörterbuch der Physiologie. 1846.
- 3) Zürn, Die pflanzlichen Parasiten auf und in dem Körper unserer Haustiere.
- 4) Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweißes. Bern 1876.
- 5) Szydlowski, Beiträge zur Mikroskopie der Faeces. Dorpat 1879.
- 6) Ernst, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 4. 1880.
- 7) Nothnagel, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 3. 1881.
- 8) Bienstock, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 8. 1884.
- 9) Kuisl, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien im normalen Darmtraktus. [Diss.] München 1885.
- 10) Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings. München 1886. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1.)
- 11) Miller, Dtsche med. Wochenschr. 1885.
- 12) Raczyński, Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889.
- 13) de Giæxa, De la quantité des Bactéries dans le contenu du tube gastroentérique de quelques animaux. (Arch. ital. de Biol. 1889. p. 229; Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890.)
- 14) Katsura, Ueber die Einflüsse der Quecksilbervergiftung auf die Darmbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. p. 359.)
- 15) Rahner, Bakteriologische Mitteilungen über die Darmbakterien der Hühner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. p. 239.)
- 16) Joest, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1902. No. 16.
- 17) Harrison, Dyar, Simeon and Keith, Technology Quarterly. Vol. 6. No. 30 from the biolog. Laborat. Boston; Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. p. 838.
- 18) Remmelts, Untersuchungen betreffend Bacterium coli commune bei Säugtieren, Vögeln und Fischen. [Diss.] Bern 1902.
- 19) Huber, Beiträge zur Bakteriologie des normalen Pferdedarmes, mit besonderer Berücksichtigung der Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe. [Inaug.-Diss.] Dresden-Leipzig 1909.
- 20) Klein, Die physiologische Bakteriologie des Darmkanals. (Arch. f. Hyg. Bd. 45. 1902. p. 117.)
- 21) Ballner, Experimentelle Studien über die physiologische Bakterienflora des Darmkanals, ausgeführt mit Kaninchen. (Zeitschr. f. Biol. Bd. 45. 1904.)
- 22) Popoff, Die Zeit der Erscheinung und die allmähliche Verbreitung der Mikroben im Verdauungstraktus der Tiere. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 217.)
- 23) Heinick, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Schweinedarmes. [Inaug.-Diss.] Bern 1903.
- 24) Hüttemann, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora im normalen Darmtraktus des Rindes. [Inaug.-Diss.] Bern 1905.
- 25) Ankersmit, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 359.)
- 26) Baruchello, Untersuchungen über die Darmstreptokokken des Pferdes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 569.)
- 27) Bienstock, Du rôle des Bactéries de l'intestin. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 14. 1900. p. 750.)
- 28) Schütz, Bakteriologisch-experimenteller Beitrag zur Frage gastrointestinaler Desinfektion. (Berlin. klin. Wochenschr. 1900. No. 45.)
- 29) Neubauer, Ueber anaërobe Bakterien im Rinderdarm. [Inaug.-Diss.] Bern 1905.
- 30) Passini, Studien über Fäulnis-erregende anaërobe Bakterien des normalen menschlichen Darmes und ihre Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1905. p. 135.)
- 31) Sucksdorf, Arch. f. Hyg. Bd. 4. 1886.
- 32) Eberlein, Ueber die im Wiederkäuermagen vorkommenden Infusorien. (Centralbl. f. Agrik.-Chem. 1896. p. 379.)
- 33) Wütrich u. Freudenreich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1895.
- 34) Brotzu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.
- 35) Hammerl, Zeitschr. f. Biol. Bd. 35. 1897.
- 36) Kohlbrugge, Der Darm und seine Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.)

- 37) Macfadyen, Nencki u. Sieber, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 28. 1891.)
- 38) Tappeiner, Untersuchung für die Gärung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanal. (Zeitschr. f. Biol. Bd. 20. 1884.)
- 39) Omelianski, Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. p. 194.)
- 40) Mereschkowsky, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 380.)
- 41) Nuttall u. Thierfelder, Tierisches Leben ohne Bakterien im Verdauungskanal. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 21. 1896. p. 109.)
- 42) Schottelius, Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung. (Arch. f. Hyg. Bd. 24. 1896.)
- 43) Smith, Theobald, Grobe und feine Spirillen im Darne eines Schweines. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1880. p. 179 u. Bd. 16. 1887. p. 324.)
- 44) Salomon, Ueber das Spirillum des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896. p. 433.)
- 45) Roux, Ueber anaërobe Bakterien als Ursache von Nekrose und Eiterung beim Rinde.
- 46) Olt, Ueber das regelmäßige Vorkommen von Rotlaufbacillen im Darne des Schweines. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. Bd. 9. 1901. No. 5.)
- 47) Jensen, Neuere Untersuchungen über den Rotlauf der Schweine. (Ref. in Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1902. No. 1.)
- 48) Bauermeister, Ueber das ständige Vorkommen pathogener Mikroorganismen, insbesondere der Rotlaufbacillen in den Tonsillen des Schweines. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 28. 1902. H. 1.)
- 49) van Velzen, Das Vorkommen pathogener Mikroorganismen bei gesunden Schweinen. [Inaug.-Diss.] Bern.
- 50) Jensen, Ueber Kälberruhr und deren Verhütung durch Seruminjektion. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 9. H. 5 u. 6.)
- 51) Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland. s'Gravenhage 1899.
- 52) Weichel, Das Vorkommen von Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe bei der Kälberruhr. [Inaug.-Diss.] Bern 1908.
- 53) Guillebeau, Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 4. 1890.)
- 54) Piorkowski u. Jess, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29.)
- 55) Zschokke, Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1900. H. 1.
- 56) Bang, Om Aarsagen til lokal Nekrose. (Maanedsskr. for Dyrlæger. Vol. 2. 1891—1892.)
- 57) Kitt, Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. Wien 1908.
- 58) Ribbert, Ueber die Verbreitungsweise der Tuberkelbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1883. p. 1314.)
- 59) Tavel, Ueber den Pseudotetanusbacillus des Darmes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. p. 538.)
- 60) Grönnig, Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarms und des Stallbodens. [Inaug.-Diss.] Bern 1901.
- 61) v. Freudenreich, Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 17. 1903. H. 3.)
- 62) Steiger, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung von Kuh und Ziege. [Inaug.-Diss.] Bern 1904.
- 63) v. Freudenreich u. Thöni, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zum Käseerzeugungsprozeß. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 4. 1890.)
- 64) Olt, Ueber das Vorkommen des Bacillus pyogenes als Sputumbakterium und Eitererreger bei verschiedenen Tierarten. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1908. No. 43.)
- 65) Uffenheimer, Beiträge zur Frage der Infektionswege. (Tuberkulose-Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. H. 9.)
- 66) Dralle, Versuche über die Durchlässigkeit der Darmwand für Bakterien. [Inaug.-Diss.] Bern.
- 67) Calmette u. Petit, Experimentelle Staphylokokkeninfektion vom Verdauungsorgane aus. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 57. p. 149.)
- 68) Westholz, Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen in den Mesenterialdrüsen des Rindes. [Inaug.-Diss.] Bern 1912.
- 69) Lehmann u. Neumann, Bakteriologische Diagnostik. München 1912.
- 70) Lembke, Beitrag zur Bakterienflora des Darmes. (Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896.)
—, Weitere Beiträge zur Bakterienflora des Darmes. (Ibid. Bd. 29. 1897.)

- 71) Hutyra u. Marek, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie. 3. Aufl. Bd. I. p. 7.)
- 72) Bang, Den smitsomme Kastning. (Maanedsskr. for Dyr læger. Bd. 8. p. 146.)
- 73) Zwick, Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1911. No. 51.
- 74) Holth, Reaktion for Kastningsinfektion hos Tyren og dens Aarsagsforhold. (Maanedsskr. for Dyr læger. Bd. 24. H. 11.)
- 75) Kempner u. Pollack, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 32.
- 76) Buchner, zit. nach Neubauer.
- 77) Mollet, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. [Inaug.-Diss.] Bern 1913.

Nachdruck verboten.

Action of Bacteria on colored Media.

[From the Laboratory of Hygiene, University of Pennsylvania,
Dr. A. C. Abbott, Director.]

By **Henry Field Smyth, M.D., Dr. P.H.,**

George B. Wood Fellow in Hygiene, Laboratory of Hygiene, University of Pennsylvania.

E. Signorelli, in an article in this Journal (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 66. p. 469) on the cultivation of bacteria on colored media, reports the results of some experiments with agar, and other media, colored with 1% dahlia solution (.05 c.c. in 10 c.c. nutrient agar), stating this medium to be of value in the identification of cholera vibrios.

He makes the following claims:

1. That *Microspira comma*, colon bacillus (variety not stated) and *Bacillus lactis aerogenes* grow well, are deeply stained, and produce a progressive decolorization of the agar extending downward and outward from the site of inoculation, completely decolorizing all the agar in the tube in one week.
2. That *Bacillus dysenteriae* (variety not stated) and *Bacillus proteus vulgaris* stain less deeply and do not decolorize the agar.
3. That *Microspira metchnikovi* and *finkleri* show no growth on dahlia agar while other vibrios take up the stain but do not decolorize the agar.
4. That *Bacillus fluorescens liquefaciens* and *Bacillus subtilis* show no growth on dahlia agar.

Signorelli also claims that this absorption is due to a selective affinity of certain organisms for dahlia and that the decolorization is due to a physical abstraction of color from the media by the organisms and not to any chemical reaction. In proof of this he made the following tests:

1. Two tubes were filled with colored agar solidified without slanting and inoculated on the surface and incubated at 37° C.; the organisms in one tube being killed by heat when the surface was covered with growth and in the other kept alive. The organisms in both tubes stained deeply. In the first tube (killed organisms) there was decolorization for only a slight distance below the surface but in the other (live organisms) the decolorization was progressive, extending to the bottom of the tube.
2. A heavy growth of organisms from uncolored agar was suspended in salt solution colored with dahlia and after a given time filtered out, leaving a colorless or much paler solution with a deposit of deeply stained cells on the filter. The amount of dahlia absorbed

was also determined by weighing the dried precipitate on the filter and determining the amount of dahlia remaining in solution by a colorimetric determination with prepared standards of known dahlia content. (.001 g vibrios absorbed .00005 g dahlia.)

3. He claimed (no tests given) that the staining was a vital staining, the color being fixed in the vibrios and not removable.

Signorelli also claimed that the dahlia does not affect materially the motility, the capacity for growth, or the virulence of the vibrios.

(Dahlia is methylviolet B.; chiefly hydrochloride of penta- and hexamethyl-pararosaniline.)

I performed a series of tests with various organisms and various strengths of dahlia solution; using, as a rule, ordinary nutrient agar neutral to litmus. With .05% of dahlia (aqueous solution) in agar I found that practically all organisms tried absorbed more or less color and showed partial decolorization of the agar within one week, but none showed complete decolorization.

	1 week.	3 weeks.
<i>Microspira schuykilliensis</i>	Slight decolorization	$\frac{1}{2}$ decol.
" <i>metchnikovi</i>	" "	"
" <i>milleri</i>	" "	"
" <i>finkleri</i>	" "	"
" isolated by Woodward from Schuykill river water	" "	"
<i>Bac. coli communior</i>	" "	"
" <i>fluorescens liquefaciens</i>	" "	"
" <i>fluorescens non-liquefaciens</i>	" "	"

The same results with more marked decolorization were obtained with .25% of dahlia. As both of the above strengths gave a very dark deeply stained agar I made further tests with .01% of dahlia in agar as follows:

	deeply stained	decolorized	in 2 weeks.
<i>Microsp. schuykilliensis</i>			
" <i>metchnikovi</i>	" "	" "	" 2 "
" <i>milleri</i>	" "	" "	" 2 "
" <i>finkleri</i>	" "	" "	" 2 "
" (Woodward)	" "	" "	" 2 "
<i>Bac. coli communior</i>	" "	" "	" 3 "
" <i>coli verus</i>	" "	" "	" 5 days.
" <i>typhosus</i>	" "	" "	" 1 week.
" <i>paratyphosus A</i>	" "	partially ($\frac{1}{3}$)	" 1 "
" <i>capsulatus</i>	" "	" ($\frac{1}{3}$)	" 1 "
" <i>lactis aerogenes</i>	" "	" ($\frac{1}{3}$)	" 1 "
" <i>proteus vulgaris</i>	" "	" ($\frac{1}{3}$)	" 1 "
" <i>prodigiosus</i>	stained; slight growth;	No decolorization.	
" <i>diphtheriticum</i>	very slight growth;	"	
<i>Pseudomonas fluorescens liqu.</i> (3)	somewhat stained	decolorized	in 1 week.
" " " (7)	slightly	"	" 1 "
" " " (11)	"	"	" 1 "
" " " (12)	"	"	" 1 "
" " " non-			
<i>liquefaciens</i> (4)	"	"	" 1 "
<i>Pseudomonas fluorescens</i>			
<i>non-liquefaciens</i> (6)	somewhat	"	" 1 "

These six strains of fluorescent *Pseudomonas* were isolated from water from various sources. No. 3 corresponds with *Ps. fluorescens* (Flügge); No. 7 with *Ps. schuykilliensis* (Wright); No. 12 with *Ps. schuykilliensis mutabilis* (Wright); No. 4 with *Ps. fluorescens alba* (Zimmermann); No. 11 and No. 6 were not identified.

As the decolorization of the dahlia media by the fluorescent organisms progressed the organisms themselves lost their color. All grew vigorously.

Microspira metchnikovi was grown one week on unstained agar, washed off with salt solution and the suspension divided into two portions, each colored equally with dahlia, and a third tube of sterile salt solution was also colored to the same degree. One tube containing organisms subjected to 100° C. for ten minutes. After 48 hours at room temperature tubes 1 and 2 were filtered and compared with tube 3 (control) and showed marked decolorization in both tubes, but little difference between living and killed organisms.

At this point it occurred to me that the decolorization of agar might be due to a chemical change and not to mere absorption of the color. So the following tests were made:

1. A dahlia solution of the same strength as used in the agar medium was treated with N/10 sodium hydroxide, and 6.4 c.c. completely decolorized 100 c.c. of the dahlia solution. (Decolorization complete in 1 hour.) The decolorized solution has its color restored when neutralized with N/10 hydrochloric acid.
2. A two weeks old decolorized dahlia agar culture of *M. metchnikovi* when covered with dilute sulphuric acid shows gradual re-appearance of color. The same result is produced by acetic acid.
3. A one week old culture of *M. metchnikovi* on uncolored agar (100 c.c.) was liquefied and titrated with N/10 hydrochloric acid using phenolphthalein as indicator and showed an alkalinity of 13.5%, or more than twice the percentage necessary to decolorize 100 c.c. of dahlia agar.
4. A one week old agar slant of *M. metchnikovi* when sterilized by heat and treated with dahlia solution showed gradual decolorization of the same.
5. 100 c.c. agar was inoculated with *Ps. fluorescens liqu.* and grown at room temperature for 7 days. The growth was then washed off with the salt solution, the agar liquefied and divided into 2 equal portions.

Portion 1. Titrated with N/10 hydrochloric acid shows alkalinity equal to 8.5 c.c.

Portion 2. Treated with .05 c.c. 1% dahlia shows partial decolorization in 24 hours; complete decolorization in 7 days. 50 c.c. of distilled water (when colored with .05 c.c. of 1% dahlia) to which 8 c.c. of N/10 sodium hydroxide had been added, was completely decolorized in 1 hour.

6. A deeply stained dahlia agar plate culture of *M. metchnikovi* covered with N/10 sodium hydroxide was completely decolorized (both agar and colonies) in 3 hours; and the color was partially restored to cells and agar in a few minutes by washing and covering with N/10 hydrochloric acid.

To further prove that the decolorization was due to alkali production some saccharose dahlia agar was prepared containing 1/4%, 1/2% and 1% of saccharose and inoculated with the following organisms:

	Saccharose 1/4%	1/2%	1%
<i>B. lactis aerogenes</i>	decolorization in 1 week.	partial. decol. in 1 week.	no decol. in 1 week.
<i>B. coli verus</i>	almost complete decol. in 1 week	almost complete decol. in 1 week	partial decol. in 1 week.

	Saccharose $\frac{1}{4}$ %	$\frac{1}{2}$ %	1 %
<i>B. coli communior</i>	complete decol. in 1 week	complete decol. in 1 week	almost complete de- col. in 1 week.
<i>M. metchnikovi</i>	complete decol. in 1 week	complete decol. in 1 week	complete decol. in 1 week.

B. lactis aerogenes, which actively splits saccharose with acid production, showed marked inhibitory effect on the decolorization through increasing acidity. The other organisms, with little or no action on saccharose, showed no inhibition.

To demonstrate that the organisms did have an attraction for dahlia even over considerable space the following tests were made; all with *M. metchnikovi*:

1. A hanging block preparation was made, 2 sq. cm. in size, of unstained agar, surrounded by a ring of dahlia agar, the clear agar inoculated in the centre, and the slide incubated at 37° C. In two hours the organisms were deeply stained.
2. Several deeply stained agar plates were poured and solidified and then blocks cut from them of varying sizes and these spaces filled with clear agar, and, when solidified, inoculated in the centre and incubated.

4 mm. square	} The centre growth became stained in 24 hours.
5 mm. "	
10 mm. "	
15 mm. "	
25 mm. "	
30 mm. "	} The centre growth became stained in a few days.
40 mm. "	

At the same time a set of sterile controls were made to observe natural diffusion. In the larger squares the diffusion was more rapid in the inoculated than in the sterile plates.

The foregoing experiments tend to prove:

1. That most organisms which produce an alkaline reaction in agar will decolorize dahlia.
2. That most organisms have some affinity for dahlia and will be stained by it in living culture or when killed by heat.
3. That the decolorization of dahlia is largely due to production of alkalinity and is inhibited by acid production.
4. That dahlia agar decolorized by bacterial action can have the color restored at least partially by treatment with acids.
5. That many *Microspira*, as well as other organisms, grow vigorously on dahlia agar, and as these organisms almost all show fairly rapid decolorization, some even more rapid than the *Microspirae*, this medium can be of little or no value to differentiate *Microspira comma* from the other spiral organisms.

Since the above tests were made Dr. Chas. Krumwiede has published a report in this journal (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 562), on the use of dahlia agar for cholera differentiation in which he states he had found no specific differences between the growth and staining of cholera vibrios and other non-pathogenic vibrios. His results along with those here recorded indicate the uselessness of dahlia agar as a differentiating medium.

Nachdruck verboten.

Besondere Arten von Eosinophilie im Blute einiger Vögel. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Ministeriums des Innern zu Tschita.]

Von Dr. I. S. Dudtschenko ¹⁾.

Mit 5 Figuren im Text.

In meinem Bericht über das Studium der Pesterkrankungen im Transbaikalschen Gebiet (Wjestnik obschtschestwennoi Hygieny, Juli, Aug. u. Nov. 1910) sprach ich von einem Adler mongolischer Rasse, Tarbaschin genannt, der einerseits der Ausbreitung der Pest gleichsam vorbeugt, indem er die Tarbagans ²⁾ und die Waldnagetiere vertilgt, welche die Pest fixieren und auf diese Weise einen endemischen Herd dieser Krankheit schaffen. Andererseits leistet der Tarbaschin, der selbst für die Pest unempfänglich ist, der Ausbreitung der Pest dadurch Vorschub, daß er die Ueberreste von pestkranken Tarbaganen, bzw. deren Leichen nach verschiedenen Orten auf große Entfernungen verschleppt.

Dem neuen bakteriologischen Laboratorium in Tschita schenkte Anfang Januar 1913 der Medizinalinspektor des Transbaikalschen Gebiets, Dr. A. W. Woskressenski, ein Exemplar eines jungen Tarbaschins, dessen Blut bei der Untersuchung außer der gewöhnlichen klein- und großkörnigen Eosinophilie auch eigentümliche eosinophile Einlagerungen in den Körpern der zerfallenden Leukocyten aufwies.

Bei der Färbung der Blutausstrichpräparate ³⁾ mit der Giemsa-Romanowski-Lösung oder mit dem Pappenheim'schen Panchrom präsentierten sich die erwähnten leukocyitären Einlagerungen, indem sie intensive Eosinfärbung annahmen, bald in Form von longitudinal-ovalen Körpern, die $1\frac{1}{2}$ — $2\ \mu$ lang waren und ihrer Form nach an Gersten- oder Reiskörner erinnerten, bald in Form von Bakterienkörpern von derselben, oben angegebenen Länge.

Außerdem enthält das Blut des Tarbaschins zahlreiche Bizzozero'sche Blutplättchen, während inmitten der Erythrocyten Poikilocytose in bedeutendem Grade mit Vergrößerung der Körper und besonders der Kerne der poikilochromen Blutkörperchen beobachtet wurde.

Ursprünglich hielt ich die von mir bei dem Adler wahrgenommenen eosinophilen Einlagerungen für Leukocytozoone und beschloß, behufs Studiums der Entwicklungsgeschichte der letzteren, das Blut des Adlers einem Hahne und zwei Hühnern zu inokulieren.

Als ich vor der Infektion der Versuchsvögel deren Blut untersuchte, fand ich im Blute des Hahnes in den Körpern einiger zerfallenden Leukocyten genau dieselben eosinophilen Einlagerungen wie bei dem Adler. Hierauf untersuchte ich das Blut bei sämtlichen übrigen 23

1) Dem Andenken meines unvergeßlichen Lehrers Prof. W. W. Podwyssotzki gewidmet.

2) Eine besondere Murmeltierart.

3) Das von mir vorgeschlagene Verfahren zur Herstellung von Blutausstrichpräparaten muß systematisch angewendet werden: Es kommt bei diesem Verfahren hauptsächlich darauf an, daß ein so kleiner Blutstropfen genommen wird, daß der ganze Inhalt desselben auf dem Objektträger Platz finden kann; dann bleiben in den Endteilen des Ausstrichpräparats sämtliche Leukocyten des betreffenden Blutstropfens zurück.

Hühnern, die während des ganzen Winters mit den früher untersuchten 3 Hühnern einen und denselben Hühnerstall innehatten. Von den 26 Hühnern hatten 10 (über 38 Proz.) im Blute bald in größerer, bald in geringerer Quantität genau dieselben eosinophilen Einlagerungen in den Leukocyten, wie sie im Blute des Adlers gefunden worden sind; außerdem wurde die gewöhnliche groß- und kleinkörnige Eosinophilie bei allen untersuchten Vögeln in mehr oder minder großer Quantität nachgewiesen.

Das Studium der Blutaussstrichpräparate vom Adler und von den 26 untersuchten Hühnern ergab folgendes:

1) Im Blute des Adlers und aller untersuchten Hühner fanden sich, wie schon erwähnt, bald in größerer, bald in geringerer Quantität groß- und kleinkörnige, kugelförmige, eosinophile Zellen, wie sie auch im Blute des Menschen und in demjenigen anderer Säugetiere vorkommen.

2) Außer den gewöhnlichen groß- und kleinkörnigen, kugelförmigen, eosinophilen Zellen fand man im Blute der bezeichneten Vögel drei der Form und der Anordnung der eosinophilen Granula nach verschiedene Formen von Eosinophilie, und zwar:

- a) kleinpunktiert-netzförmige,
- b) oval-reisförmige,
- c) stäbchenförmige.

Beim Studium der verschiedenen Arten dieser 3 Eosinophilieformen kann man sich überzeugen, daß in ein und demselben Leukocyten sowohl reine als auch gemischte Arten von Eosinophilie bestehen.

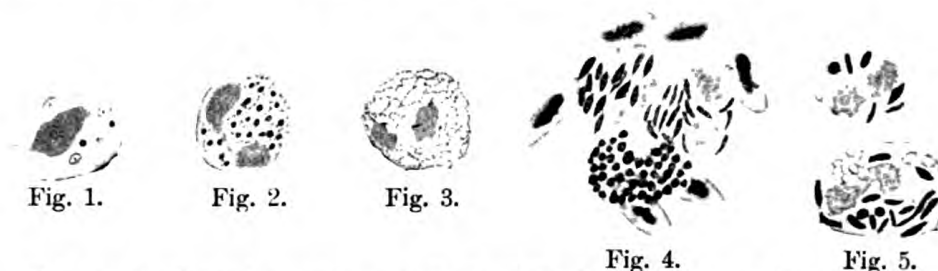


Fig. 1—5. Besondere Arten von Eosinophilie im Blute vom Adler und von den Hühnern. Gezeichnet nach der Natur. Zeiss, Immers. $\frac{1}{12}$, Okul. 4.

Die punktiert-netzförmige Art, die bei Vögeln augenscheinlich die häufigste Art von Eosinophilie darstellt, beginnt mit dem Auftreten im Körper des normalen (der Form und der Fähigkeit nach, sich gleichmäßig zu färben) Leukocyten von kleinen eosinophilen Punkten, die bisweilen von einer hellen, nicht gefärbten Protoplasmapartie umgeben sind, bisweilen eine solche Protoplasmapartie auch vermissen lassen (vgl. Fig. 1). Bei der weiteren Entwicklung erweist sich das ganze Protoplasma des Leukocyten als durchweg mit eosinophilen Punkten ausgefüllt, von denen jeder gleichsam von einer Masche aus feinsten eosinophilen Granula umgeben ist (vgl. Fig. 2). Die im Zentrum der Masche liegenden Granula vergrößern sich und verschwinden mit der Zeit aus den Maschen, während der Leukocyt nach der Entfernung der größeren Granula ein kleinmaschiges Gebilde aus Maschen von feinsten eosinophilen Granula darstellt, wobei die Konturen seines Körpers erhalten und Ueberreste von sich schlecht färbenden Kernschöllchen zu sehen sind (vgl. Fig. 2).

Die oval-reisförmige und die stäbchenförmige Form der Eosinophilie (vgl. Fig. 4) stellen augenscheinlich zwei Varianten

einer verwandten Gruppe dar. Bei der Mehrzahl der eosinophilen Zellen dieser Sorte sieht man irgendeine einzige Form von Eosinophilie, die ovale oder die stäbchenförmige; bisweilen beobachtet man jedoch in ein und demselben Leukocyten das Vorhandensein beider Eosinophilieformen, nämlich der stäbchenförmigen und der reisförmigen. Außer der soeben erwähnten Mischung kann man an einigen Präparaten auch das Vorhandensein von kugelig oder sogar netzartiger Eosinophilie beobachten (vgl. Fig. 5).

Wird der Blutausschlag über 4—5 Minuten lang in nicht genügend wasserfreiem (unter 97°—98°) Methylalkohol fixiert, so geht der hämoglobinhaltige Körper des Erythrocyten in Lösung über und verschwindet, im Vogelblute nur die sich intensiv färbenden Kerne und die Leukocyten zurücklassend; hierbei bleiben in den eosinophilen Zellen sämtliche eosinophilen Gebilde (Granula etc.) erhalten, indem sie der Auflösung entgehen.

In biochemischer Beziehung sind folglich die eosinophilen Gebilde in den Leukocyten mit dem Hämoglobin nicht identisch, für dessen Reste oder Derivate man dem Anschein nach die eosinophilen Gebilde hätte halten können, die sich ebenso färben wie das Hämoglobin.

Bisweilen kann man reiskornförmige und stäbchenförmige Gebilde sehen, die von dem Anschein nach normalen Leukocyten phagocytiert sind; somit können diese Gebilde in demselben Blute Objekte der Phagocytose sein.

Häufig kann man Leukocyten beobachten, welche reiskornförmige und stäbchenförmige Gebilde enthalten, während der Leukocyt selbst sich im Zustande vollständigen Zerfalls befindet. Man sieht dann im Gesichtsfeld einen schwach und ungleichmäßig zart-himmelbau gefärbten, schollenartigen Kern mit usurierten Rändern, der bisweilen gelappt ist; um denselben herum sieht man feine staubförmige Körnung oder Ueberreste eines netzartigen Gebildes, während die intensiv gefärbten, reiskornförmigen oder stäbchenförmigen Gebilde in der Umgebung der Leukocytenüberreste zerstreut sind, und zwar häufig in großer Entfernung von den letzteren, die den Durchmesser des größten Makrophagen übertrifft.

Somit sind sämtliche beschriebenen Arten der eosinophilen Gebilde miteinander augenscheinlich verwandt, während man die Eosinophilie in biochemischer Beziehung, wie dies übrigens aus folgenden Ausführungen hervorgehen wird, als eine der zahlreichen Arten der leukocyitären Reaktion ansehen muß, welche gewisse Antikörper (körnige Substanzen) für die Bedürfnisse des betreffenden Organismus zu produzieren bezweckt.

Indem ich mich nun der Feststellung der Bedingungen, welche das Auftreten der beschriebenen Eosinophilie beim Adler und bei den 26 Hühnern hervorgerufen haben konnten, zuwende, muß ich bemerken, daß diese Vögel, bevor ihr Blut untersucht wurde, sich viele Wochen lang unter äußerst ungünstigen Bedingungen befanden. Der Adler steckte in einem dunklen Kasten aus Eisenblech; er wurde mangelhaft, und zwar lediglich mit rohem Viehfleisch gefüttert, und man gab ihm obendrein kein Wasser, weil man glaubte, der Adler nehme Wasser nicht zu sich. Im Laboratorium wurde der Adler, da er sich hier in besseren Lebensbedingungen befand, rasch munter, und sein Blut gab nicht mehr die früheren, stark ausgeprägten Bilder von Eosinophilie.

Die Hühner gehörten einem armen Manne; sie verbrachten den ganzen Winter in einer dunklen Ecke in einem engen Stall bei mangelhafter Ernährung und ungenügender Tränkung. Die Vögel, welche zuerst untersucht wurden, waren mager, hatten blasse, blutlose Kämme und an den Beinen zahlreiche schwielige Gewächse. Einige Hühner konnten nicht laufen, und bei oberflächlichen Hautstichen trat fast kein Blut hervor, während bei tieferen Stichen sich diffuse Blutung einstellte, wobei das Blut wässerig und blaß gefärbt war, kurz der Zustand dieser Hühner erinnerte an Skorbut beim Menschen.

Auf Grund der soeben geschilderten Momente kann man die Entstehung der Eosinophilie bei den untersuchten Vögeln mutmaßlich folgendermaßen erklären: Infolge der ungenügenden Ernährung und des mangelhaften hygienischen Milieus überhaupt, traten bei allen diesen Vögeln allgemeine Abmagerung und chronische Autointoxikation ein, welche letztere bei der andauernd ungenügenden Wasserzufuhr unbedingt eintreten mußte.

Um die Autointoxikation zu überwinden, kämpfte der Organismus der Vögel unter anderem auch damit, daß einige Leukocyten eosinophile Substanzen produzierten, wie wir es im Organismus des mit Helminthiasis (besonders mit Ascariden) behafteten Menschen beobachten, der gleichfalls eine vermehrte Anzahl von eosinophilen Substanzen produziert; es ist auch bekannt, daß bei chronischen Ekzemen, die von zahlreichen Spezialisten als Aeußerung von Autointoxikation betrachtet werden, gleichfalls erhöhte Eosinophilie beobachtet wird (Neisser).

Schließlich ist auch Prof. N. J. Tschistowitsch¹⁾ auf Grund seiner Blutuntersuchungen bei einigen akuten infektiösen Krankheiten zu dem Schlusse gelangt, daß der bei diesen Krankheiten zur Beobachtung gelangende verschiedenartige körnige Zerfall der Leukocyten und der Bizzozeroschen Blutplättchen als morphologische Aeußerung der vom erkrankten Organismus produzierten Schutzsubstanzen, Antikörper, Antitoxine, Bakteriolyse etc. betrachtet werden muß.

Schlüsse.

1) Bei manchen Vögeln tritt, wenn sie ungenügend ernährt und in mangelhaftem hygienischen Milieu gehalten werden, bei allgemeiner Inanition bedeutende Eosinophilie im Blute auf.

2) Nach allen vorliegenden Erhebungen muß man die Eosinophilie überhaupt als Spezialform der leukocyitären Reaktion des Organismus betrachten, der die Schutzkörper produziert, die er im gegebenen Zustande braucht.

3) Im Blute des mongolischen Adlers Tarbaschin und in demjenigen von Hühnern fanden sich eigentümliche Formen von eosinophilen Gebilden, die im Blute des Menschen und in demjenigen von Säugetieren nicht beschrieben worden sind.

1) Russki Wratsch. 1906.

Nachdruck verboten

Werden Kaninchen durch Injektionen von Formaldehyd gegen nachfolgende Infektion mit Milzbrand geschützt?

[Aus dem Hygienischen Institut in Kiel (Direktor:
Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer).]

Von Dr. med. **Carl Theodor Willich**,
ehemaligem Medizinalpraktikanten am Institut.

In Bd. 57. Heft 2. p. 155 dieser Zeitschrift erschien eine Arbeit von Gustav Uhland über „Innere Desinfektion und Schutzwirkung durch Formaldehyd. solutum gegenüber dem Milzbranderreger“.

Nach seinen Versuchen kommt unter anderem Uhland zu dem Schlusse, daß durch Vorbehandlung mit Formaldehyd die Widerstandsfähigkeit der Kaninchen gegenüber Milzbrand erhöht wird, und daß bei Vorbehandlung mit genügenden Mengen die Versuchstiere einer 1—4 Tage nach Formaldehydbehandlung vorgenommenen Milzbrandinfektion nicht erliegen.

Dies auffallende Ergebnis der Uhlandschen Versuche, nämlich die scheinbar immunisierende Wirkung der Formaldehydbehandlung gegenüber dem Milzbrand beim Kaninchen, hat uns veranlaßt, seine Versuche nachzuprüfen.

Da Uhland gefunden hatte, daß die immunisierende Wirkung des Formaldehyds sich mit denselben Dosen erzielen ließ, die in vitro imstande waren, in defibriniertem Blute resp. in Bouillon befindliche Milzbrandkulturen abzutöten, so wurde auch von mir zunächst einerseits geprüft, wie sich das Wachstum von einer Oese Milzbrandbacillen in Blut- und Bouillonröhrchen gestaltete, denen vorher Formalin in bestimmten Mengen zugesetzt war, andererseits, wie sich 14 Stunden alte Milzbrandkulturen (in Bouillon und Ziegenblut) verhielten, wenn ihnen nachträglich Formaldehyd in verschiedenen Verdünnungen zugefügt wurde.

Bei der erstgenannten Art der Anordnung (Beimpfen von mit Formalin versetzter Bouillon resp. Blut) bekam ich annähernd dieselben Resultate wie Uhland. Dagegen gelang es mir nicht, die 14-stündigen Kulturen in so kurzer Zeit mit denselben Formaldehydmengen abzutöten wie Uhland. Da die innige Vermengung von Blut und Formaldehyd auf Schwierigkeiten stößt, ist es möglich, daß meine schlechteren Resultate zum Teil hierdurch bedingt sind.

Von den Versuchen an Kaninchen wiederholte ich die 3. Versuchsreihe Uhlands, nämlich die über die Wirkung der Milzbrandinfektion nach vorhergegangener Formaldehydinjektion. Ich habe die Verdünnungen des Formaldehyds rechnerisch in derselben Weise wie Uhland hergestellt, setzte aber in einem Teil der Fälle statt Aqua sterilisata physiologische NaCl-Lösung zu dem Formalin hinzu, da diese Injektionen nach unseren Erfahrungen von den Kaninchen besser vertragen wurden. Um aber dem Einwand zu begegnen, hierdurch könnten vielleicht meine gegensätzlichen Erfolge begründet sein, habe ich für die zwei letzten Versuche Formalin + Aqua sterilisata verwendet (siehe Tabelle).

Die Infektion der Kaninchen mit Milzbrand geschah subkutan, ohne daß dabei Blutungen entstanden. Wir brachten unter die Haut in eine mit der Schere hergestellte Tasche 2 Oesen einer Milzbrandkultur, deren Virulenz wir durch jedesmalige Infektion einer weißen Maus kontrollierten.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, starben alle auf diese Weise infizierten mit Formalin vorbehandelten Kaninchen an Milzbrand, ebenso

Tabelle.

Kaninchen-No.	Gewicht in Gramm	Formaldehyddosis in Gramm	Die Formaldehyddosis entspricht einem Verhältnis von Formaldehyd. solutum zu Blut wie	Formaldehyddosis pro Kilogramm Körpergewicht	Verdünnung des Formaldehyd. solutum in Aqua sterilisata oder NaCl-Lösung	Die Formaldehydinjektion erfolgt vor der Milzbrandinfektion	Der Tod tritt ein nach der Milzbrandinfektion	Autopsie ergibt	Bemerkungen
1 2050	0,076	—	—	0,038 g	NaCl-Lösung	4 Tage	2 Tage 2 St.	Milzbr. +	—
2 1540	—	—	—	—	—	—	2 Tage	„ +	Kontrolle für No. 1.
3 3020	0,081	1 : 2000	0,023 g	NaCl-Lösung	3 Tage	2 1/2 Tage	Milzbr. +	„ +	Maus stirbt nach 25 St.
4 3350	0,09	1 : 1000	0,027 „	„	4 „	3 „	„ +	„ +	Maus stirbt nach 1 1/2 Tg.
5 1870	0,052	1 : 1000	0,026 „	„	3 „	2 1/2 „	„ +	„ +	
6 2020	0,027	1 : 2000	0,013 „	„	2 „	2 „	„ +	„ +	
7 3000	0,04	1 : 2000	0,013 „	„	1 Tag	14 St. 2 Tage 7 St.	„ +	„ +	Sollte Kontr. für No. 4—7 sein (2 Oesen Milzbr.). Das Tier stirbt nicht!
8 1500	—	—	—	—	—	—	—	—	
9 2350	0,062	1 : 1000	0,021 g	Aq. sterilis.	2 Tage	1 Tag 16 St.	Milzbr. +	„ +	Maus stirbt nach 26 St.
10 3280	0,044	1 : 2000	0,013 „	„	1 Tag	2 Tage, 6 St.	„ +	„ +	

das Kontrolltier 2, während das Kontrolltier 8 trotz wiederholter Infektion nicht zugrunde ging! Bei allen an Milzbrand verendeten Tieren waren die Zeichen des Milzbrandes gleichmäßig stark ausgeprägt. Auch das nicht vorbehandelte Kaninchen No. 2 bot ein sich in keiner Weise von den übrigen unterscheidendes autoptisches Bild. Mit Kaninchen No. 8 habe ich nun keine Kontrolle erzielen können, da dieses Tier nach stattgehabter Infektion scheinbar gar nicht erkrankte. Es wurde später nochmals mit 2 Oesen Milzbrand infiziert, erkrankte sichtlich, aber überstand auch diese Infektion. Ueber das Alter des Tieres ist nichts bekannt, jedenfalls geht aber aus diesem Ergebnis die Tatsache hervor, daß die verschiedene Empfänglichkeit der Kaninchen für Milzbrand in manchen Fällen, wo es sich scheinbar um künstliche Immunität handelt, sehr wohl auf natürliche Resistenz bezogen werden kann.

Nach unseren Ergebnissen kann also von einer Verhinderung des Todeseintrittes infolge Vorbehandlung der Kaninchen mit Form-

aldehyd nicht die Rede sein. Ob eine Verzögerung des Todes-
eintrittes die Folge war, können wir mangels genügender Kontrolltiere
mit absoluter Sicherheit nicht entscheiden. Wir beobachteten aber bei
Kaninchen No. 2 (nicht vorbehandelt) den Tod 2 Tage post infectionem,
bei Kaninchen No. 9 (vorbehandelt) 1 Tag 16 Stunden post infectionem,
Kaninchen No. 4 zeigt allerdings eine gewisse Verzögerung des Todes-
eintrittes (erst 3 Tage post infectionem), aber alle übrigen Tiere starben
etwa ebenso lange nach der Infektion wie die Kontrolltiere Uhlands
($1\frac{3}{4}$ — $2\frac{1}{2}$ Tage post infectionem).

Wir glauben deshalb, nicht fehlzugehen, wenn wir annehmen, daß
jedenfalls eine Immunisierung von allen Kaninchen gegen Milzbrand
vermittelt Formaldehydinjektion im Sinne Uhlands nicht möglich
ist, daß dagegen, wie schon früher festgestellt wurde¹⁾, unter den
Kaninchen von vornherein eine individuelle größere oder geringere
Unempfänglichkeit gegen künstliche Milzbrandinfektion bestehen
kann. Ob diese natürliche Resistenz durch Vorbehandlung mit Form-
aldehyd günstig oder ungünstig beeinflusst wird, bleibt vorderhand un-
entschieden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Privat-
dozenten Dr. Bitter für die Anregung zu den vorstehenden Unter-
suchungen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Die Wassermannsche Reaktion in der pathologischen Anatomie.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Kaiserl. Universität in
Warschau (Direktor: Prof. J. Poscharisky).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. J. Guladse,

Abteilungschef an dem Ujasdowschen Militärhospital in Warschau.

Kurz nach den bahnbrechenden Arbeiten Wassermanns (1906)
über die Serodiagnose der Syphilis erschien die Arbeit von E. Fraenkel
und H. Much (1908) über die Anwendung der Syphilisreaktion an der
Leiche. Die letztgenannten Autoren kamen zu dem Schlusse, daß die
Wassermannsche Reaktion an der Leiche möglich sei und eine große
Bedeutung für die pathologische Anatomie besitze. C. Bruck (1909)
erhielt mit der Wassermannschen Reaktion an der Leiche entgegen-
gesetzte Resultate; in einer großen Anzahl von Fällen bekam er positive
Reaktionen an Leichen ohne Verdacht auf Syphilis. Die oben genannten
sowie folgende Arbeiten auf diesem Gebiete gruppieren wir tabellarisch
(p. 330):

Die großen Meinungsverschiedenheiten zwischen den Autoren über
die Anwendbarkeit der Wassermannschen Reaktion an der Leiche
veranlaßten uns, an dem großen Leichenmaterial des pathologisch-
anatomischen Instituts der Kaiserl. Universität in Warschau und des
Prosektoriums des Ujasdowschen Militärhospitals in Warschau vom

1) Melnikow-Raswedenkow, N., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897.

	Leichen	Positive Wassermannsche Reaktion	Proz.
E. Fraenkel u. H. Much ¹⁾ (1908)	82	32 Fälle	39
C. Bruck ²⁾ (1909)	101	59 "	58,4
Seligmann u. Blume ³⁾ (1909)	100	28 "	28
Schlimpert ⁴⁾ (1909)	361	46 "	18,7
Lucksch ⁵⁾ (1910)	303	145 "	46
Simmonds ⁶⁾ (1910)	160	33 "	21
Prof. Lubarsch ⁷⁾ (1910)	262	55 "	21
Löhlein ⁸⁾ (1910)	149	42 "	28,2
Veszprémi ⁹⁾ (1910)	100	46 "	46
de Besche ¹⁰⁾ (1910)	100	29 "	29
Krefting ¹¹⁾ (1910)	115	43 "	37
Nauwerck u. Weichert ¹²⁾ (1910)	206	57 "	28
v. Werd ¹³⁾ (1911)	307	47 "	15,5
H. Schmidt ¹⁴⁾ (1911)	221	56 "	25,3
Candler and Mann ¹⁵⁾ (1912)	112	25 "	22,3
Gruber ¹⁶⁾ (1912)	300	101 "	33,4

Dezember 1911 bis zum Februar 1913 die Wassermannsche Reaktion auszuführen. In fast allen Fällen wurde das Leichenserum und die Cerebrospinalflüssigkeit und in einer Reihe von Fällen die Perikardialflüssigkeit (76 Fälle), das Pleuritis- (65 Fälle) und das Ascitesexsudat (66 Fälle) untersucht. Wir folgten der klassischen Wassermann-Neisser-Bruckschen Methodik, wobei als Antigen Leberextrakt von einemluetischen Fötus oder ein Extrakt aus dem Meerschweinchenherz diente. Nur volle Hemmung der Hämolyse wurde als positiv notiert.

Im ganzen kamen 1002 Leichen der Reihe nach zur Untersuchung, davon waren 57 unbrauchbar (Fäulnis etc.), in 45 Fällen trat Selbsthemmung ein, die übrigen 900 Leichen gaben: 193 positive Wassermannsche Reaktion (21,5 Proz.), 639 negative Wassermannsche Reaktion und 68 gemischte Reaktion (7,3 Proz.). In die letztere Gruppe verwiesen wir Fälle mit verschiedener Reaktion im Blute und Spinalflüssigkeit. Aus der Zahl der 193 positiven Wassermannschen Reaktionen waren in 102 Fällen deutliche anamnestische, klinische oder anatomische Hinweise auf Lues vorhanden (was 47 Proz. des positiven und 10,1 Proz. des ganzen Materials (900) ausmacht). In 91 Fällen positiver Wassermannscher Reaktion war absolut kein Verdacht auf Lues, unter letzteren Fällen waren Kadaver mit Tuberkulose, Tumorkachexien und Sepsis. In 62 Fällen wurde die Wassermannsche Reaktion am Leben und bei denselben Fällen post mortem ausgeführt, wobei in 59 Fällen die Resultate eindeutig waren und nur in 3 Fällen auseinander gingen.

Im ganzen haben wir 2302 Einzelreaktionen gemacht, auf Grund welcher wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Wassermannsche Reaktion am Leben und nach dem Tode bei demselben Individuum ausgeführt, gibt gleichartige Resultate.

2) Das Leichenserum ist für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion brauchbar.

3) Die Cerebrospinal-, Perikardial- und Ascitesflüssigkeiten sowie das Pleuritisexsudat sind für die Wassermannsche Reaktion brauchbar und geben fast mit dem Blutserum identische Resultate.

4) Das Blut verfaulten Leichen ist für die Wassermannsche Reaktion gänzlich unbrauchbar.

5) Die Modifikation der Wassermannschen Reaktion nach Wolff (Bearbeitung des Serums mit frisch gefälltem BaSO_4) verdient weitere Nachprüfung an der Leiche.

6) Für syphilitische Leichen ist die Wassermannsche Reaktion spezifisch.

7) Tuberkulose, Sepsis und Tumorkachexien geben an der Leiche oft positive Reaktionen.

8) Die Wassermannsche Reaktion hat eine große Bedeutung für die pathologische Anatomie, im besonderen für Krankheiten mit dunkler, luesverdächtigter Aetiologie.

Warschau, 28. April/11. Mai 1913.

Literatur.

- 1) München. med. Wochenschr. 1908. No. 48.
- 2) Die Serodiagnose der Syphilis. Berlin 1909. p. 47.
- 3) Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 24.
- 4) München. med. Wochenschr. 1909. No. 29.
- 5) Verhandl. d. Dtschen pathol. Ges. 1910. p. 249.
- 6) Verhandl. d. Dtschen pathol. Ges. 1910. p. 251.
- 7) Jahreskurse f. ärztl. Fortbild. 1911. No. 1.
- 8) Verhandl. d. Dtschen pathol. Ges. 1910. p. 282.
- 9) Centralbl. f. pathol. Anat. 1910. p. 193.
- 10) Berlin. klin. Wochenschr. 1910. No. 26.
- 11) Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 8.
- 12) München. med. Wochenschr. 1910. p. 2329.
- 13) Corresp.-Bl. f. schweiz. Aerzte. 1911. No. 29.
- 14) Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 17.
- 15) Brit. med. Journ. 1912. March 9.
- 16) München. med. Wochenschr. 1912. No. 25.

Nachdruck verboten.

Eine Methode zur Bestimmung der Desinfektionskraft.

Von Dr. **Hugo Kühl**, Kiel.

Unter Desinfektionskraft eines Körpers versteht man seine Fähigkeit, niedere pflanzliche Organismen abzutöten. Die Eigenart der Zelle, die sich nicht wie ein Molekül behandeln läßt, bedingt in erster Linie die verschiedene Wirkung ein und desselben Giftstoffes auf verschiedene Zellen unter im übrigen gleichen Bedingungen.

Die Desinfektion ist nicht zu verwechseln mit der technisch so außerordentlich wichtigen Entwicklungshemmung. Die Entwicklung niederer Organismen zu hemmen, bedarf es nur außerordentlich geringer Mengen eines Giftstoffes; so fand Laubenheimer¹⁾, daß eine Phobrollösung von 1 : 22 000 noch die Entwicklung, d. h. in diesem Falle die Fortpflanzung von Staphylokokken hemmt, während eine solche von 0,5/100 erforderlich ist zur Abtötung.

Als allgemeine Regel gilt, daß die an sich wirksame Lösung eines Giftstoffes in schwacher, zur Desinfektion nicht mehr ausreichender Konzentration die Entwicklung niederer pflanzlicher Organismen hemmt.

1) Laubenheimer, Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. p. 118.

Erfährt die Konzentration eine weitere Verminderung, so kommt ein Punkt, wo der Giftstoff neutral wirkt, d. h. das Wachstum nicht beeinflußt, bei noch geringerer Konzentration endlich wird das Wachstum gefördert, der Giftstoff übt eine Reizwirkung aus.

Die Reizwirkung ist abhängig von der Zahl der ursprünglich vorhandenen Keime und der Temperatur, bei welcher der Giftstoff zur Wirkung gelangt. Gelegentlich der Prüfung der Reizwirkung des therapeutisch wichtigen Quecksilberoxycyanid konnte ich feststellen, daß diese Verbindung in der Konzentration von 1 : 200 000 das Wachstum der Fäulnisbakterien bei 22—25° C mehr begünstigt, als bei einer 16—18° C betragenden Wärme. Im ersten Falle betrug die Keimzahl 176 500, im zweiten 148 750 für das Kubikzentimeter. Selbstverständlich hängt die Reizwirkung auch wesentlich ab von der Art des vorliegenden Organismus; aus diesem Grunde ist eine graphische Darstellung der Desinfektionskraft, der entwicklungshemmenden Kraft und der Reizwirkung eines Giftstoffes unmöglich.

Die Reizwirkung ist keineswegs in allen ihren Phasen aufgeklärt; trotzdem können wir sie aber in vorteilhafter Weise bei der Bestimmung der entwicklungshemmenden und desinfizierenden Kraft eines Giftstoffes benutzen. Anstatt nach der desinfizierenden Einwirkung auf das Testmaterial das Desinfektionsmittel unschädlich zu machen, kann man unter Berücksichtigung der Reizwirkung in der Weise verfahren, daß man das Testmaterial, infizierte Leinenläppchen, Woll- oder Seidenfäden, nach der Desinfektion mit sterilisierter Pinzette unter Wahrung steriler Bedingungen in eine zum Auswaschen des anhaftenden Desinfiziens geeignete Flüssigkeit bringt und darauf in oder auf das Nährsubstrat.

Das Gesagte möchte ich durch einige Versuche illustrieren: Ein vorzügliches Desinficiens ist das von der Firma Hoffmann La Roche in Verkehr gebrachte Phobrol, über welches Laubenheimer eingehend arbeitete. Ich stellte mir die Aufgabe, die desinfizierende Wirkung auf Sputum festzustellen, und zwar zunächst auf durch Sputum beschmutzte Wäsche, sodann auf frisches Sputum (Speiglasdesinfektion). Die Schwierigkeit, die Bakterien, namentlich Tuberkelbakterien, abzutöten, ist darin begründet, daß die Mucinstoffe bei der Desinfektion leicht gerinnen und die Bakterien mit einer undurchdringlichen, festen Hülle umgeben. Es kann somit bei der Sputumdesinfektion leicht eine bakterizide Wirkung des Giftstoffes angenommen werden, während es sich nur um eine Entwicklungshemmung handelt. Die Natur des Sputum bedingt es ferner, daß in dem einen Falle eine größere Dosis des Giftstoffes erforderlich ist als in einem anderen. Ich verwendete in den nachfolgend mitzuteilenden Versuchen Rindersputum, das reich an Rindertuberkelbacillen war.

1. Versuch.

Es wurde eine 4-proz. Phobrolösung hergestellt: a) unter Zusatz von 20-proz. Spiritus, b) ohne Spiritus. Diese Lösungen enthielten 2-proz. Chlor-m-Kresol, da das Phobrol eine 50-proz. Lösung darstellt. Aus dieser 4-proz. Stammlösung stellte ich mir dann durch Verdünnen mit sterilem Wasser außerdem eine 3-proz. Phobrolösung a¹ und b¹, sowie eine 2-proz. a² und b² her. Es wurde also die Wirkung von 3 Konzentrationen in 2 Modifikationen geprüft. Ich benötigte 18 Kolben mit je 500 ccm sterilem Wasser. Zunächst tauchte ich 18 kleine Leinenläppchen (4 qcm groß) in eine Glasschale mit Sputum. Darauf wurden

jedesmal 3 Lappen in die Desinfektionsflüssigkeiten a, a¹, a², b, b¹, b² gebracht, in diesen unter Umrühren 25 Minuten belassen, um dann in den entsprechend bezeichneten Kolben mit sterilem Wasser ausgespült zu werden. Für eine völlige Beseitigung des Desinficiens sorgte ich durch zeitweiliges leichtes Umschwenken des Kolben. Nach Ablauf von 10 Minuten brachte ich die Leinenlappen mit steriler Pinzette in die noch weichflüssigen Nährböden, die ich in feuchter Kammer bei 37° C aufbewahrte. Uebrigens legte ich zur Kontrolle Tröpfchenkulturen auf Glycerinagar aus dem zum Abspülen des Desinficiens benutzten Wasser an und beließ diese ebenfalls bei 37° C in feuchter Kammer. Beobachtet wurde 1 Woche hindurch. Das Endergebnis war folgendes:

Konzentration der Phobrolösung					Wachstum		
a	4-proz.	Phobrol	mit	20-proz. Spiritus	0	0	0
a ¹	3-	"	"	20- " "	0	0	0
a ²	2-	"	"	20- " "	+	+	+
b	4-	"	"	ohne Spiritus	0	0	0
b ¹	3-	"	"	"	+	+	+
b ²	2-	"	"	"	+	+	+

Konzentration der Phobrolösung					Wachstum		
a	Spülwasser zur Beseitigung des Desinficiens				0	0	0
a ¹	"	"	"	"	0	0	0
a ²	"	"	"	"	+	+	+
b	"	"	"	"	0	0	0
b ¹	"	"	"	"	+	+	+
b ²	"	"	"	"	+	+	+

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß eine 4-proz. Phobrolösung die Tuberkelbacillen in und an sputumhaltiger Wäsche vernichtet, daß in 20-proz. Spiritus haltiger Lösung 3 Proz. Phobrol ausreichen, ferner — und das kommt für uns in erster Linie in Betracht — daß die übertragene Mengen Phobrol keine Wachstumshemmung bei der Versuchsanordnung bedingen.

2. Versuch.

Das Resultat des jetzt mitzuteilenden Versuches ist ein negatives, d. h. die angewandte Phobrolmenge genügte bei der Zeitdauer nicht zur Aeußerung einer bakteriziden Wirkung. Der Desinfektionsversuch wurde mit 5- und 6-proz. Phobrolösung ausgeführt. Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die bakterizide Wirkung dem Sputum gegenüber wesentlich abhängt von der jedesmaligen Beschaffenheit desselben, daß bei gleicher Versuchsanordnung unter Umständen eine stärkere Phobrolösung erforderlich ist. Ferner muß darauf hingewiesen werden, daß zur Desinfektion von Speinäpfen von vornherein konzentrierte Lösungen angewendet werden müssen. Der Fall lag vor.

Es wurden 20 ccm Tuberkelbacillen haltendes Rindersputum in durch Glasstöpsel verschlossenen zylindrischen Gläsern mit 1 bzw. 1,2 ccm Phobrol versetzt. Die Mischung wurde nach kräftigem Durchschütteln milchig-weiß. Sputum I enthielt 5,0-proz. Phobrol, Sputum II 6,0-proz. Phobrol. Uebergeimpft wurde 3mal, die so entstehende Verdünnung ist aus der tabellarischen Zusammenstellung ersichtlich.

I	II	III	IV
Sputum + Phobrol	Physiolog. Kochsalz- lösung	Bouillon mit 2,5-proz. Glycerin	Bouillon mit 2,5-proz. Glycerin
20 ccm	100 ccm	100 ccm	100 ccm

Von I wurden 0,5 ccm entsprechend 0,025 ccm Phobrol übertragen in II. Von II (Lösung 0,025/100) wurden 0,5 ccm übertragen in III. Von III (Lösung 0,000125/100) wurde 1 ccm übertragen in IV. Es wurde somit am Schlusse eine Phobrolösung 0,00000125/100 in Bouillon erhalten.

In gleicher Weise verfuhr ich unter Anwendung von 6-proz. Phobrol.

Zur Kontrolle übertrug ich 0,5 ccm Sputum in II—IV. Die Kolben III und IV wurden zur Anreicherung etwa vorhandener Keime bei 37,5° C im Brutschrank 3 Tage belassen. Das Resultat war folgendes:

5-proz. Phobrol + Sputum		6-proz. Phobrol + Sputum	
Kolben III	Kolben IV	Kolben III	Kolben IV
Bouillon trübe, Wachstum.	Bouillon nach 3 Tg. klar, nach 4 Tagen schwache Trübung.	Bouillon klar, aber bedeckt mit zarter, etwas glänzender u. gewellter Kahlhaut, die von stäbchenförmigen unbeweglichen Bakterien gebildet wurde.	Bouillon auch nach 5 Tagen klar, jedoch schwache Kahlhaut wie bei III.

Bei diesem Versuch waren mir folgende Beobachtungen interessant:

1) Meine Anschauung über die Reizwirkung geringer Giftmengen fand ich bestätigt, die Reizwirkung trat am stärksten in der durch Kolben III repräsentierten Verdünnung zutage; bei der nächstfolgenden Verdünnung (0,00000125 bzw. bei 6-proz. Phobrol 0,0000015/100) war eine Reizwirkung nicht mehr wahrnehmbar.

2) Durch die soeben kurz skizzierte Methode war ich unter Berücksichtigung der Reizwirkung geringer Giftmengen zu einer Reinkultur des *Bacillus tuberculosis bovinus* gelangt.

Die Bakterien der Kahlhaut zeigten folgendes Verhalten in Kultur:

1) Glycerinagarstrichkultur bei 37,5° C: Gelblich-weiße, mattglänzende, erhaben aufliegende, unregelmäßig geformte Auflagerungen.

2) Glycerinkartoffelkultur bei 37,5° C: Stark erhaben hervortretender, krümeliger Belag.

Eine Impfung von Meerschweinchen wurde nicht ausgeführt, da der Augenschein durchaus genügte zur Feststellung der Tatsache, daß eine Desinfektion nicht erfolgt war. Dieser Befund überrascht, weil 3—4 Proz. dieses vorzüglichen Desinfiziens ausreichen zur Abtötung der Tuberkelbacillen in Milch. Eine Erklärung, und zwar die einzige, liegt in der Bezeichnung *Mycobacterium tuberculosis*, die Vernichtung der Bakterie an sich bereitet keine wesentlichen Schwierigkeiten; diese haben ihre Ursache vielmehr in der Gerinnung des umhüllenden Schleimes.

An nächster Stelle möchte ich Untersuchungen von Liquor aluminii subaceti wiedergeben, wenn ich auch eingehend, freilich von ganz anderen Gesichtspunkten aus, hierüber berichtete¹⁾.

Es wurden 3 Präparate untersucht: 1) ein frisch dargestelltes; 2) ein aus einer Apotheke bezogenes Präparat; 3) ein altes, trüb gewordenes, das stark abgesetzt hatte, im filtrierten Zustande. Als Testmaterial verwandte ich einen virulenten Coli-Stamm, den ich als Ursache einer Käsevergiftung ermittelt hatte. Die Bakterie war aus dem Herzblut eines Meerschweinchens, das infolge intraperitonealer Injektion eingegangen war, gezüchtet.

Das Prüfungsergebnis der entwicklungshemmenden Kraft der 3 Präparate gewährt uns einen Einblick in die Wirkungsweise des

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. p. 49.

Liquor aluminii subacetici. Ich verfuhr in der Art, daß ich zu 9 ccm Bouillongelatine, die mit 0,2 ccm einer Bakterienaufschwemmung geimpft war, bestimmte Mengen der Präparate 1—3 hinzufügte unter Beobachtung steriler Verhältnisse. Auf diese Weise erhielt ich verschiedene Konzentrationen im Nährsubstrat. Die in Petri-Schalen ausgegossenen Gelatinenährböden wurden bei etwa 18° C belassen. Zur Kontrolle wurde jedesmal eine Platte ohne Zusatz des Desinficiens angesetzt. Die Resultate sind in tabellarischer Zusammenstellung wiedergegeben.

[Zur Erklärung möchte ich bemerken, daß die Konzentrationen in Prozenten angegeben sind. Die Zeichen haben folgende Bedeutung: Starke Reizwirkung +; Reizwirkung —; neutrale Zone 0; starke Hemmung +++; Hemmung ++; mäßige Hemmung +.]

1	0,01	0,05	0,10	0,20	0,25	0,50
	+	—	0	++	++	+++
2	0,01	0,05	0,10	0,20	0,25	0,50
	+	—	0	+	++	++
3	0,01	0,05	0,10	0,20	0,25	0,50
	+	+	—	0	+	++

Die Zusammenstellung läßt deutlich erkennen, daß geringe Mengen essigsaurer Tonerde keine Entwicklungshemmung verursachen, sondern vielmehr eine Reizwirkung ausüben. Besonders scharf trat die Aenderung des Einflusses zutage, so daß in dem vorliegenden Falle fast eine graphische Darstellung möglich gewesen wäre. In der schwächsten Konzentration haben wir eine starke Reizwirkung. Mit zunehmender Konzentration wird diese abgeschwächt, hört z. B. bei 1 in der Konzentration 0,10 ganz auf, um dann biologisch einer entgegengesetzten Wirkung, nämlich einer stetig wachsenden Entwicklungshemmung Platz zu machen.

Ich habe im Laufe der letzten Jahre eine ganze Reihe von Desinfektionsversuchen ausgeführt unter Berücksichtigung der Reizwirkung, also ohne Beseitigung des Desinfektionsmittels auf chemischem Wege. Ich habe niemals die Beobachtung machen können, daß durch übertragene Giftmengen eine Entwicklungshemmung herbeigeführt wird, wenn für eine ausreichende Verdünnung der Lösung des Giftstoffes Sorge getragen wird.

Nur ein Beispiel möchte ich zum Schlusse noch kurz anführen. Auf Veranlassung von Prof. Dr. Rupp in Königsberg führte ich Untersuchungen aus, die Aufklärung geben sollten über die Desinfektionswirkung des reinen und des Quecksilbercyanid haltenden Quecksilberoxycyanid. Es handelte sich um physikochemische Probleme, in erster Linie um die Lösung der Frage, ob dem „Oxycyanid“ die Desinfektionswirkung zugeschrieben werden muß, oder ob dieses ziemlich nebensächlich ist und es lediglich des Cyanids + Hydroxylionen bedarf.

Zur Lösung der Aufgabe habe ich eine Reihe von Bestimmungen ausgeführt¹⁾; es wurde zunächst die Reizwirkung kleiner Mengen festgestellt, dann die entwicklungshemmende Kraft gegenüber Rohkulturen und Reinkulturen von Bacillen und Bakterien, endlich die desinfektorische oder bakterizide Wirkung. Die Arbeiten, welche sich über 2 Jahre erstrecken, konnten mit Erfolg durchgeführt werden, obwohl auf eine chemische Entfernung des Desinficiens durch Schwefelammon Verzicht geleistet und stets unter Berücksichtigung der Reizwirkung in der oben genügend charakterisierten Weise verfahren wurde.

1) Arch. d. Pharm. Bd. 251. 1913, H. 5.

Wenn ich den Inhalt kurz zusammenfasse, so kann es in folgendem Satze geschehen: Bei der Wertbestimmung eines Desinfektionsmittels ist es durchaus nicht erforderlich, dieses auf chemischem Wege zu beseitigen, wie fast ausnahmslos vorgeschlagen wird, es ist vielmehr die rein mechanische Beseitigung durch Ausspülen des Desinfektionsmittels völlig ausreichend.

Inhalt.

- Bertarelli, E. u. Melli, C.**, Experimentelle Untersuchungen über die Pseudolyssa, p. 286.
- Buermann, Andreas W.**, Ueber aërobe Mikroorganismen im Psalter und Colon beim Rinde, p. 291.
- Carpano, Matteo**, Beitrag zur Kenntnis des *B. mallei*. Morphologisches und Biologisches, p. 267.
- Dudtschenko, I. S.**, Besondere Arten von Eosinophilie im Blute einiger Vögel, p. 323.
- de Gasperi, F. u. Sangiorgi, G.**, Die „Meerschweinchenpest“, eine durch filterbares Virus hervorgerufene Meerschweinchenseuche, p. 257.
- Guladse, J.**, Die Wassermannsche Reaktion in der pathologischen Anatomie, p. 329.
- Kühl, Hugo**, Eine Methode zur Bestimmung der Desinfektionskraft, p. 331.
- Smyth, Henry Field**, Action of Bacteria on colored Media, p. 319.
- Willich, Carl Theodor**, Werden Kaninchen durch Injektion von Formaldehyd gegen nachfolgende Infektion mit Milzbrand geschützt?, p. 327.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 71. Heft 5/7.

Ausgegeben am 15. November 1913.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Dysenteriebacillen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalten in Czernowitz.]

Von Dr. Desider Natonek, Assistenten.

In einer vor kurzem aus unserem Institut erschienenen kleinen Mitteilung¹⁾ konnte gezeigt werden, daß Typhusstämme, die aus verschiedenen Organen einer Leiche heraus kultiviert wurden, sich auf verschiedenen Zuckernährböden durchaus unregelmäßig und regellos verhalten, und daß aus einer Typhusreinkultur Sekundärstämme gewonnen werden können, die in ihrem Verhalten auf Zuckernährböden weder untereinander, noch mit der Ausgangskultur übereinstimmen. Wir vermuteten nun, daß größere oder kleinere kulturelle Differenzen auf bestimmten Zuckernährböden sehr viele Bakterienarten aufweisen dürften, die man insbesondere wegen ihrer biologischen Eigenschaften identifizieren muß. So war es denn sehr naheliegend, mit der von uns früher erwähnten Versuchsanordnung auch zahlreiche Dysenteriestämme auf ihr Verhalten zu Nährböden zu prüfen, die Zuckerarten oder diesen nahestehende mehratomige Alkohole enthalten. Zu dieser Prüfung veranlaßte uns noch der Umstand, daß ja das Verhalten von Dysenterieerregern, die bei den verschiedenen Epidemien von zahlreichen Kranken gewonnen werden, sich sehr different auf verschiedenen Zuckernährböden verhalten, so daß mehrere Autoren nicht nur eine Einteilung in giftige und ungiftige Dysenteriebacillen treffen, sondern insbesondere die ungiftigen Stämme in zahlreiche Arten teilen, je nach ihrem Verhalten auf gewissen Zuckernährböden. So ist es bei unserer zunehmenden Kenntnis auf diesem Gebiet dazu gekommen, daß eine Unzahl Dysenterieerregertypen beschrieben wurden und wir derzeit von einer allseits befriedigenden Einteilung dieser pathogenen Bacillen noch recht weit entfernt sind. Dazu kommt noch, daß mehrere Autoren (Gay und Duval, Duval und Shorer, Knox und Shorer, Amako u. a.)²⁾ mehrere Typen von Dysenteriebacillen als Erreger einer Epidemie beschrieben haben. Auf Grund unserer bei den Typhusbacillen gemachten Erfahrungen wäre es nun naheliegend, anzunehmen, daß auch die Dysenteriebacillen weitgehende Differenzen in ihrem Verhalten auf Zuckernährböden aufweisen, und daß dies der Grund für die beschriebene große Anzahl von Dysenterietypen und für die Mehrheit der Erreger bei einem Patienten ist.

Wir sahen uns daher veranlaßt, aus einer dysenterischen Entleerung zahlreiche Stämme zu isolieren und diese dann vergleichsweise auf ihr Verhalten zu den verschiedenen Zuckernährböden zu prüfen.

Wir haben dies in 3 Fällen einer kleinen Epidemie des Sommers 1913 durchgeführt. Vom Fall A haben wir eine Stuhlentleerung auf zahl-

1) Raubitschek u. Natonek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 241.

2) Vgl. Raubitschek, Die bacilläre Dysenterie. (Ergebn. d. allgem. Path. u. path. Anat. Jahrg. 16. 1912.)

reichen Endo-Platten kultiviert und die farblos gewachsenen Kolonien isoliert. Unser Fall B, eine Wärterin, die A gepflegt hat und sich so erwiesenermaßen von A infiziert hat, wurde in gleicher Weise untersucht, indem wir auch hier eine Stuhlentleerung kultivierten und die verdächtigen Kolonien isolierten. Unser Fall C derselben Epidemie wurde derartig verarbeitet, daß wir 2 Stuhlentleerungen, die in einem Intervall von 2 Tagen uns übergeben wurden, in gleicher Weise behandelten. So wurden nun zahlreiche Einzelkulturen gewonnen, die zur Sicherstellung der Reinheit ein zweites Mal auf Endo-Platten kultiviert wurden, von denen dann neuerlich je eine isolierte Kolonie abgestochen wurde. Die so gewonnenen Stämme, insgesamt 83, zeigten alle morphologischen und kulturellen Zeichen echter Shiga-Kruse-Bacillen. Wir hatten nun die Aufgabe, alle diese Stämme vergleichend auf zahlreichen Zuckernährböden zu prüfen. Dieser Aufgabe hat sich Herr cand. med. Schwefel unter unserer Anleitung unterzogen. Als Nährboden wählten wir durchweg eine 2-proz. Nutroselösung mit $\frac{1}{2}$ -proz. NaCl, der jeweils Mannit, Traubenzucker, Milhzucker, Dextrin, Rhamnose, Galaktose, Rohrzucker in 1-proz. und Lackmuslösung (nach Kubel und Tiemann) in 5-proz. Konzentration zugesetzt wurden. Die Nährlösungen wurden an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 10' im strömenden Dampf sterilisiert. Die Epruvetten blieben bis zu einer Woche in der Brutkammer zur Beobachtung. Das Resultat dieser Versuche entsprach nun insofern nicht unseren Erwartungen, als es sich herausstellte, daß sämtliche 83 Stämme sich auf allen den angeführten Nährlösungen durchaus übereinstimmend verhielten. Wir müssen also annehmen, daß die Shiga-Kruse-Bacillen sich auf den Zuckernährböden viel gleichmäßiger verhalten als die Typhusbacillen, und daß die letzteren vielleicht in dieser Beziehung überhaupt eine Sonderstellung einnehmen. Zur Ergänzung unserer Erfahrung an den Shiga-Kruse-Bacillen erscheint es wünschenswert, daß vergleichende Untersuchungen zahlreicher Stämme einer Entleerung auch bei Dysenterieerkrankungen vorgenommen werden, die durch einen der ungiftigen Dysenterietypen erregt werden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Morphologie des *Bact. coli*, *B. typhi abdominalis* und der anderen gramnegativen Bacillen.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik in Fukuoka, Japan.

(Vorstand: Prof. S. Ito).]

Von Dr. **K. Shimidsu**, Assistenten der Klinik.

Mit 5 Figuren.

Bekanntlich wurde das Tuscheverfahren zu mikroskopischen Zwecken im Jahre 1909 zuerst von Burri und Matzuura eingeführt. Und bald darauf wurde Giuseppe Sangiorgi durch diese neue Methode auf eine Eigentümlichkeit der gramnegativen Bacillen aufmerksam, nämlich auf einen schwarzen Punkt an der zentralen Partie dieser Bacillenspecies. Er erwähnte dabei, daß dieser Punkt mit dem umgebenden Medium einen ganz gleichen Farbenton hat, und daß seine Größe und Lage bei diesen Bacillen einen geringen Unterschied zeigten, ohne von

dem Aether und der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig zu sein. Aber er konnte dieses Phänomen beim Erhitzen auf 100° C im Wasser oder bei Zusatz von Essigsäure über eine gewisse Konzentration nicht beobachten. Leider gab er in seiner Arbeit über die Genese und Bedeutung dieses Punktes nichts an, sondern fügte bloß hinzu, daß die äußeren Formen der Bacillen in einem nahezu physiologischen Zustand erhalten wären.

Diesen Versuch prüfte ich nach und kam zu folgendem Resultat:

I. Färbematerialien:

- a) Chinesische Tuschesuspension (aus einer sterilisierten Tuschesuspension durch eine Zentrifuge dargestellt).
b) Sepientinte (wässrige Lösung des schwarzen Saftes des Tintenfisches).
c) Wässrige „Prussian Blue“-Lösung.

II. Untersuchungsmaterialien:

- a) 4—5 Arten von Bact. coli.
b) Typhus- und Paratyphus-Bacillen A und B.
c) Bacillus dysenteriae von Prof. Shiga.
d) Bacillus pyocyaneus.
e) Ekiri-Bacillus von Prof. S. Ito.
f) Heubacillen.
g) Bacillus mesentericus.

Diese Bacillen sind mir teilweise durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Miyairi aus dem bakteriologisch-hygienischen Institut in Fukuoka zur Verfügung gestellt worden, wofür ich hier meinen besten Dank ausspreche.

III. Nährmedien:

- a) Flüssige Nährböden.
b) Feste Nährböden.
c) Wasser.

IV. Alter der Kultur:

- a) 6 Stunden.
b) 12 Stunden.
c) 36 Stunden.
d) 3 Tage.
e) 7 Tage.
f) 30 Tage und darüber.

V. In der Tuschesuspension und deren Ersatzmaterialien kultivierte Mikroben

Ferner wurden die Mikroben beim Mikroskopieren folgendermaßen vorbehandelt:

- a) Mit Essigsäure in verschiedener Konzentration,
b) mit 100° C heißem Wasser,
c) mit allmählich bis auf 100° C steigendem Wasser.

Schließlich wurden noch lebende Mikroben untersucht.

Da der Befund jenes schwarzen Punktes, welcher bei der Untersuchung der äußeren Formen der Mikroben durch die oben beschriebenen Materialien und Versuchsordnung erhoben wurde, bei allen oben erwähnten Bacillenarten fast völlig übereinstimmt, so möchte ich hier meine Beobachtungen speziell über Bact. coli anführen, und zwar wie folgt:

Der sogenannte schwarze Punkt an Bact. coli wurde beobachtet:

- a) Bei verschiedenem Alter der Kultur,
b) bei allen Arten des Nährbodens,
c) in wässriger Tuschesuspension oder Sepia, oder auch im Wasser,
d) in einer unter 5000 facher Essigsäurelösung,
e) bei den mit 100° C heißem Wasser behandelten Mikroben, wobei dieselben etwas verkleinert erscheinen.

Er wurde aber vermißt:

- a) in einer über 1000-fachen wässerigen Essigsäurelösung,
- b) bei den mit allmählich bis auf 100° C steigendem Wasser behandelten Mikroben.

Ueber die Beziehungen dieses schwarzen Punktes zur Konzentration der Tuschesuspension und über die äußeren Formen der Mikroben konnte ich folgendes konstatieren:

a) Bei den mit einer bedeutend verdünnten Tuschemischung behandelten war der Punkt kaum wahrnehmbar.

b) Bei einem gewissen Konzentrationsgrade der Tusche waren die Mikrobengrenzen und der Punkt deutlicher wahrzunehmen, aber etwas verkleinert.

c) Bei einer übermäßigen Konzentration der Tusche waren weder die Mikroben selbst, noch der schwarze Punkt sichtbar.

d) Bei einer passenden Konzentration der Tusche sieht man außer den gewöhnlichen ovalen Mikrobenformen noch andere etwas längliche, in der Mitte etwas verschmälerte, wie rote Blutkörperchen auf dem Rande aussehende Stäbchen, worauf aber jener schwarze Punkt nicht sichtbar ist, wie in Fig. B.



A.
Flächenbild.



B.
Seitliches Bild.



C.
Halbmondförmiges Bild.

e) Bei derselben Konzentration sieht man oft den schwarzen Punkt auf das umgebende schwarze Medium allmählich übergehen, so daß halbmondförmige Mikrobenformen auftreten, wie in Fig. C.

f) Der schwarze Punkt liegt gewöhnlich in der Mitte des Mikrobenleibes, ist meist rund oder oval, ab und zu unregelmäßig geformt. Da die Mikroben gewöhnlich etwas länglich sind, so erscheint der ungefärbte Teil des übrigen Mikrobenkörpers an den Polen meist etwas breiter als in der Mitte; der Punkt kann aber auch am Rande der Mikroben sein, oder auch den größten Teil des Mikrobenkörpers besetzen; auch kann die Helligkeit des Punktes je nach der Lage desselben verschieden sein.

Bei der Anwendung von Sepia erlangt man auch dasselbe Resultat, wie mit der Tusche, bloß ist der schwarze Punkt etwas heller als die Umgebung und zeigt hier oft Rhagadenbildungen.

Bei der „Prussian Blue“-Färbung gilt dasselbe wie oben, bloß mit einem Stich ins Bläuliche.

Definition des schwarzen Punktes:

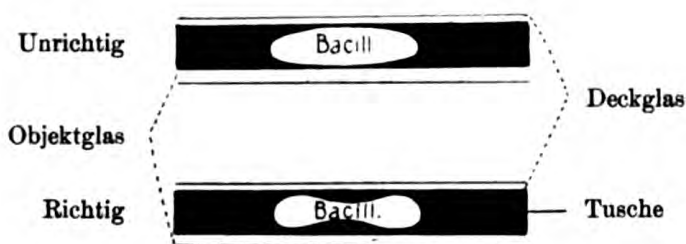
Bezüglich dieses Punktes existieren einige Theorien, die ich kurz skizzieren und an die ich auch meine anknüpfen will:

I. Philipp Eisenberg sagt, sich auf seine Ektoplasmatheorie stützend, daß der zentrale Teil der Bacillen eigentlich heller sein solle, als der periphere, weil die durch den zentralen dünneren Teil derselben durchgehenden Strahlen intensiver sind als die peripheren. Aber die Tatsache widerspricht seiner Annahme, und er meint diesbezüglich, daß

das Lichtbrechungsvermögen des Protoplasmas durch seine physikochemische Eigenschaft irgendeine besondere Rolle spielen. Aber durch diese Annahme lassen sich folgende Fragen noch nicht exakt definieren:

- a) Der oben angegebene Typus B, wo der Punkt nicht sichtbar ist,
- b) der Typus C, wo der Bacillenkörper halbmondförmig erscheint,
- c) auch die schwarze Farbe des Punktes,
- d) die verschiedene Intensität der Farbe des Punktes durch Tusche-, Sepia- und „Prussian Blue“-Färbung.

II. Eine andere Theorie sagt, daß die zentrale Partie des Bacillus durchsichtig und der schwarze Punkt die unter den Bacillen liegende Tintenschicht sei. Auch durch diese Annahme lassen sich obige Fragen nicht erklären, besonders die intensivere Färbung des Punktes. Schließt man nämlich zwischen zwei Deckgläsern Bacillen und Tinte ein, und untersucht von beiden Seiten mikroskopisch, so ist der schwarze Punkt



D.

auch auf jeder Seite, d. h. auf jeder Fläche des Präparates zu beobachten, ein Beweis, daß diese Theorie nicht ganz richtig ist.

III. Eine noch andere Theorie sagt, die zentrale Partie des Bacillus sei rau und nehme die Farbe leichter an und sei so als ein schwarzer Punkt wahrnehmbar. Auch hierdurch lassen sich aber Typus B und C nicht erklären; ferner ist es auch nicht denkbar, an Bacillenkörpern rauhe oder chrominaffine Stellen speziell anzunehmen.

Aus meinen Versuchen wurde ich zur folgenden Ansicht geführt:

a) Der schwarze Punkt stellt eine Vertiefung dar, wie eine Pfütze, in der sich Tinte wie Wasser leicht ansammelt.

b) Daß die Vertiefung in der Mitte am stärksten ausgeprägt ist, ist aus der intensiveren zentralen Schwarzfärbung des Punktes zu erkennen.

c) Bis zu einem gewissen Grade der Tintenkonzentration wurde der Punkt deutlicher wahrgenommen.

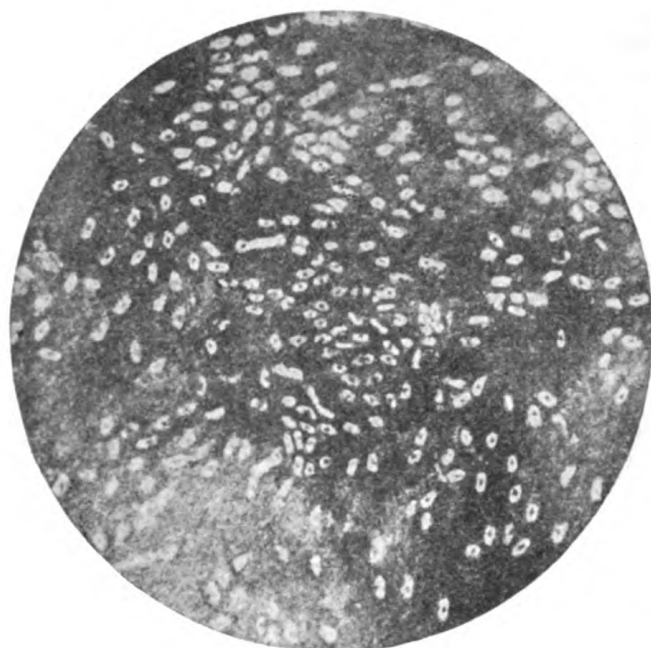
d) Da man den schwarzen Punkt auf beiden Flächen der Mikroben wahrnimmt, so ist bewiesen, daß auf beiden Seiten je eine Vertiefung vorhanden ist.

e) Durch die Annahme je einer Delle auf jeder Bacillenfläche mußte ich mir notwendigerweise auch deren Seitenbild vorstellen, und dieses verwirklicht Typus B, worauf aber der schwarze Punkt nicht sichtbar ist; offenbar ist diese Bilderscheinung selten, weil die Mikroben nicht stabil sind und erst durch die Tuschebehandlung der Punkt wahrnehmbar wird.

f) Auch das halbmondförmige Bild ist durch eine Schiefstellung der Mikroben zu erklären.

Um meine Annahme schließlich noch exakter zu deuten, glaubte ich, die Tinte in der Vertiefung mit Wasser abwaschen zu können, aber das Verfahren war zu umständlich und der Zweck konnte nur selten erreicht werden, weswegen ich die Sache vorläufig noch dahingestellt sein lassen will.

Ferner wurde zum Beweise meiner Annahme bei lebenden Mikroben noch experimentiert, und zwar:



E.
Bacillus Shiga.

a) Konnte ich, wenn ich an hängenden Tropfen vorsichtig untersuchte, jene Vertiefungen und das eigentümliche Seitenbild aufs deutlichste darstellen.

b) Erwärmte ich ein Präparat von Mikroben an hängenden Tuschetropfen von einer Seite, so konnte ich die Vertiefungen direkt vor und nach der Austrocknung besonders schön beobachten.

c) Eben dasselbe Bild konnte ich bei Bewegungsbeschränkungen der Mikroben durch eine Gummi arabicum-Lösung auch schön beobachten.

d) Mit einem Dunkelbeleuchtungsapparat untersucht, erscheinen

die Mikroben auf den ersten Blick wie Diplokokken, aber genauer beobachtet, ist dies nicht der Fall.

Schluß: Coli-, Typhus- und die anderen gramnegativen Bacillen haben ovale Formen mit abgestumpften, runden Enden und bikonkave Flächen die Profilansicht der Bacillen ist etwa $\frac{1}{8}$ (zuweilen gleich breit) der Flächenansicht.

Fukuoka (Japan), Juni 1911.

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen während einer Froschepizootie gezüchteten Bacillus.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Instituts für allgemeine
Pathologie der Universität Moskau.]

Von

Dr. F. Venulet, Privatdozent, und Dr. L. Padlewski, Assistent.

Mit 1 Tafel.

Ende des Herbstes vorigen Jahres stellte einer von uns (Venulet) Versuche mit geschwulstartigen Neubildungen bei Fröschen an, wobei die Beobachtung gemacht wurde, daß einige der zu diesem Zwecke operierten Frösche nach wenigen Tagen zugrunde gingen: Die Tiere sahen ödematös aus, ihr Körper war geschwollen, ganz besonders aber die Extremitäten. Bei den auf diese Weise erkrankten Tieren machte sich ein allgemeiner Schwächezustand bemerkbar, denn sie bewegten sich kaum und reagierten nur schwach auf äußere Reize.

Eine Infektion vermutend, unterzogen wir die erkrankten Frösche einer bakteriologischen Untersuchung, die folgendes zeigte. In der Flüssigkeit des Lymphsackes und im Herzblut fanden sich in großer Anzahl bewegliche, manchmal zu zweien verbundene Stäbchen, die ihrem Aussehen nach eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Typhusbacillus und seinesgleichen besaßen; ebensolche Stäbchen wurden in Ausstrichpräparaten aus Leber, Milz und Nieren gefunden.

Aussaaten auf den üblichen Nährböden zeigten nach 24 Stunden ein gutes Wachstum sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Brutschrank; auch unter anaërobiotischen Bedingungen kam es zum Wachstum. Auf Agar in Petri-Schalen entstanden nach 24 Stunden außer den weit zahlreicheren, ganz durchsichtigen, farblosen Kolonien mit glatten Rändern und 2—3 mm im Durchmesser noch wenige, weißliche und gelblich-trübe Kolonien mit unebenen Rändern. Die aus diesen letzteren Kolonien gewonnenen Kulturen eines stäbchenförmigen Bacillus erwiesen sich bei Infektion einer ganzen Serie von Fröschen als nicht pathogen und wurden deshalb nicht mehr weiter untersucht.

Von Interesse sind nur die erwähnten dominierenden Kolonien. Die subkutane Infektion mit 0,1 und sogar 0,01 Oese Reinkultur dieses Bacillus rief bei Fröschen eine charakteristische Erkrankung hervor, die identisch war mit dem Krankheitsbild, das wir bei den spontan erkrankten, operierten Fröschen beobachteten. Diese Frage weiter verfolgend, erfuhren wir, daß in dem im Institut sich befindenden Bassin mit gesunden Fröschen fast täglich tote Frösche gefunden wurden, die der Diener einfach wegwarf. Nachdem wir uns davon überzeugt hatten, untersuchten wir alle toten Frösche und erhielten bei allen den beschriebenen Bacillus in Reinkultur. Derselbe Befund zeigte sich auch bei den im Bassin aufgefundenen kranken Fröschen.

Bei künstlicher Infektion von Fröschen, die leicht gelingt bei subkutaner Einführung kleiner Mengen einer jungen Kultur, beobachteten wir folgendes Bild: Entsteht die Erkrankung akut, d. h. wenn die Frösche 2—3 Tage nach der Infektion eingehen, so sind schon am nächsten Tage bemerkbar: Apathie, geringere Beweglichkeit, schwache

Reaktion auf äußere Reize, Hyperämie der Haut, besonders des Leibes und der Hüften, geringes Oedem der Extremitäten. Nach 2 Tagen sind diese Erscheinungen noch mehr vorgeschritten, besonders fällt das Oedem in die Augen. Unter den Erscheinungen zunehmenden Oedems, Dyspnoë (die Frösche verweilen öfters mit offenem Mund) und Muskelschwäche gehen die Frösche am 3. Tage, manchmal noch früher, zugrunde. Kurz vor dem Tode liegt der Frosch mit ausgezogenen hinteren Beinen, ohne sie bei Reizung einzuziehen, was auf Parese oder Lähmung hindeutet.

Von dieser typischen Erkrankung kommen Abweichungen vor, die sich darin äußern, daß entweder die krankhaften Erscheinungen sehr schnell entstehen und die Frösche schon im Laufe der ersten 24 Stunden eingehen (fulminante Form), oder aber die Erkrankung zieht sich hin und die Tiere sterben erst nach 5—7 Tagen und noch später; bei letzteren Tieren traten die erwähnten Erscheinungen nicht so scharf auf, das Oedem nicht ausgenommen. Solch einen Verlauf nahm die Krankheit später, als die Virulenz unseres Bacillus nachließ. Auf diese Weise kam es unter Umständen vor, daß nicht alle infizierten Frösche eingingen, ja, daß sie sogar wieder gesund wurden.

Wir müssen noch hinzufügen, daß in den chronischen Fällen die Froschhaut heller wurde, also weniger Pigment enthielt. Die roten Blutkörper von erkrankten Fröschen sind meistens vakuolisiert, was auf frischen, ungefärbten Blutpräparaten gut zu sehen ist.

Bei der Sektion eingegangener Frösche fanden wir im Lymphsinus eine große Menge trüber, leicht opaleszierender Flüssigkeit von hämorrhagischer Beschaffenheit. Die Muskeln des Leibes und der Extremitäten sind stark ödematös. In der Bauchhöhle eine bald größere, bald geringere Menge seröser Flüssigkeit, manchmal von blutiger Beschaffenheit. Es fällt die Hyperämie des Mesenteriums, Hyperämie und Oedem des Magendarmkanals, ins Auge. Milz und Leber sind vergrößert. Auf histologischen Präparaten innerer Organe bemerkt man eine deutliche Hyperämie in den Nieren, parenchymatöse Veränderungen daselbst und in der Leber. In allen Organen und in den Muskeln ist eine große Anzahl stäbchenförmiger Mikroben vorhanden, die stellenweise, wie z. B. in der Milz, ganze Haufen bilden. Auf Blutaussstrichen findet sich eine Menge stäbchenförmiger Mikroben, die bei protrahierten Krankheitsformen zu Gruppen agglutiniert sind. Sowohl auf frischen, als auch auf gefärbten Präparaten der Flüssigkeit aus dem Lymphsack kann man oft das Bild einer regen Phagocytose beobachten.

Bakteriologische Untersuchung.

Bei Aussaaten von Material aus dem Herzblut, der Milz, Leber, Gallenblase, aus dem Exsudat in der Bauchhöhle, aus der Flüssigkeit des Lymphsackes wuchsen schon nach Verlauf von 24 Stunden Reinkulturen eines stäbchenförmigen Bacillus, der mit dem in den Ausstrichpräparaten aus Froschorganen identisch war. Auf schrägem Agar erinnert der Belag nach 24 Stunden an den Wuchs der Bacillen der Typhusgruppe; es ist derselbe durchsichtige Belag mit leichtem, bläulichem Schimmer bei durchfallendem Licht.

Die Bouillon trübt sich gleichmäßig; bei leichtem Schütteln bildet sich ein Wölkchen. Es entsteht kein Häutchen. Nach 3—4 Tagen bildet sich am Boden ein kleiner Satz. Das Wachstum auf Kartoffeln gleicht demjenigen des Typhusbacillus. Die Gelatine wird nach 1—2 Tagen nur oben flüssig, was dem Cholera vibrio ähnelt. Nach 3—4 Tagen wird

oben eine kleine Gelatineschicht flüssig. Geronnenes Blutserum wird flüssig. Milch gerinnt nicht, wenigstens selbst nach 24—48-stündigem Verweilen im Thermostaten. Erst nach 3—4 Tagen ist die Milch geronnen.

In der Bouillon von Omeliansky mit Neutralrot nach Berestneff gefärbt, etwas Gasbildung ohne Farbenveränderung; später aber entfärbt sich die Bouillon.

In Agar mit Traubenzucker bilden sich Gasbläschen.

Peptonwasser, mit Mannit und Lackmus gefärbt, wird nach 2 Tagen etwas rot; auf dem Boden entsteht ein rötlicher Satz; das gleiche beobachtet man, wenn dem Peptonwasser Traubenzucker beigefügt ist. Ein laktosehaltiger Nährboden verändert seine Farbe nicht.

In Bouillon mit Pepton bildet sich Indol schon nach 12 bis 24 Stunden.

Auf Agarschalen sehen einzelne Kolonien nach 24-stündigem Wachstum im Thermostat wie durchsichtige, glänzende Tropfen mit glatten Rändern aus. Ein Trübwerden der Kolonien wird selbst nach längerem Wachstum nicht bemerkt.

Der Bacillus färbt sich gut mit allen Anilinfarben. Bei gewöhnlicher Gram-Färbung entfärbt er sich. Grampositiv ist er nur bei äußerst kurzer, fast momentaner Entfärbung mit Alkohol.

Morphologie des Mikroben.

Bald kürzeres, bald längeres Stäbchen mit abgerundeten Enden, erinnert sehr der Form nach an den Typhusbacillus. In Ausstrichpräparaten von erkrankten und eingegangenen Fröschen finden sich nicht selten zu zweien verbundene Stäbchen. Lange Fäden werden nicht gebildet. Im Tierorganismus besitzt der Bacillus die Neigung, sich bipolar zu färben, wodurch er dem Pestbacillus ähnelt. Der Bacillus ist beweglich und besitzt an einem Ende eine Geißel, was auf nach Zettnow gefärbten Präparaten gut zu sehen ist (Fig. 2). Auf Ausstrichpräparaten von Froschorganen beobachtet man öfters Kapselbildung, aber keine Sporenbildung. Der gezüchtete Bacillus erwies sich pathogen für Meerschweinchen, welche nach subkutaner oder intraperitonealer Impfung von $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{20}$ Agarkultur nach 12—36 Stunden unter Krämpfen zugrunde gingen.

Bei der Sektion bemerkt man an der Impfstelle im subkutanen Zellengewebe ein ziemliches, geleeartiges Oedem mit punktförmigen Blutungen; die benachbarten Lymphdrüsen sind vergrößert, hyperämisch, mit Blutungen. Es entsteht das Bild wie bei einer Infektion mit dem Milzbrandbacillus. Ziemliche Hyperämie des Bauchfells und des Mesenteriums. Die Darmwand ödematös. Die Därme voll schleimig-blutiger Flüssigkeit. Milz, Leber, Nieren vergrößert, blutreich. Harnblase voll trüben Harns, der Eiweiß, Schleim, Zylinder und rote Blutkörperchen enthält. Auf Blutausstrichpräparaten, in Organ- und Gallenaussaaten derselbe Bacillus. Auf histologischen Präparaten aus verschiedenen Organen eine allgemeine Hyperämie, besonders in der Marksubstanz der Nebennieren, dann trübe Schwellung des Epithels der Harnkanälchen, parenchymatöse Veränderungen der Leber.

Die gleichen makro- und mikroskopischen Veränderungen fanden sich in den Organen eines Meerschweinchens, das nach Injektion von 0,2—0,5 ccm des Filtrats einer 7-tägigen Bouillonkultur eingegangen war.

Die Toxizität des Filtrats bleibt die gleiche bei Züchtung sowohl bei Zimmertemperatur, als auch im Thermostaten.

Die Toxizität (0,02—0,05 ccm) kam auch bei weißen Mäusen zum Vorschein, welche gewöhnlich nach 1—2 Tagen eingingen. Bei Kaninchen gelingt es, nach Einführung einer $\frac{1}{10}$ Agarkultur ins Peritoneum eine tödliche Erkrankung hervorzurufen; die Tiere sterben dabei schon während der ersten 24 Stunden. Beim Hund kommen selbst nach sehr großen Kulturquantitäten (2—3 Kulturen) keine krankhaften Symptome zum Vorschein. Eine Taube ging in weniger als 24 Stunden nach Injektion in die Vene einer $\frac{1}{10}$ Kultur ein; aus dem Blut wurde eine Reinkultur gezüchtet.

Die Feststellung einer spezifischen, bacillären Erkrankung bei Kaltblütern, wie der Frosch, unter Berücksichtigung der toxogenen Eigenschaften unseres Bacillus führte uns zu Versuchen an Fischen, die wir dank der Freundlichkeit des Herrn K. Hippus in dessen Aquarium ausführen konnten.

Es wurden subkutan mit eintägiger Kultur ein Hecht und ein Sterlet infiziert. Beide Fische gingen ein; der Hecht nach 7 Tagen, der Sterlet nach 15, während die Kontrollfische sich wohl fühlten. An der Injektionsstelle zeigte sich anfangs ein zirkumskriptes Oedem mit Blutungen, besonders beim Sterlet (Fig. 1), das später in eine allgemeine Körperschwellung überging.

Bei der Sektion konnten nur lokale entzündliche Erscheinungen festgestellt werden, aber keine Veränderungen innerer Organe, woran vielleicht unsere geringe Kenntnis des Fischorganismus die Schuld trägt. Im Blut und in der serösen Flüssigkeit fand sich der von uns beschriebene Bacillus, der in Reinkultur gewonnen wurde.

In einem anderen Versuche gelang es, Erkrankung und Tod des Hechtes bei einmaliger Infektion des Wassers im Aquarium mit einer Kultur zu bewirken. Aus den Organen des 13 Tage nach der Infektion des Wassers eingegangenen Hechtes wurde derselbe Bacillus gezüchtet. Der Sterlet erkrankte unter den gleichen Versuchsbedingungen, erholte sich aber nachher.

Erwähnenswert ist noch, daß es uns gelungen ist, eine tödliche Infektion beim Krebs hervorzurufen, nach Einführung einer geringen Quantität Reinkultur in den Schwanzmuskel. Aus den Organen wurde eine Reinkultur gewonnen.

In letzter Zeit entstand im Laboratorium des Instituts für allgemeine Pathologie bei laparotomierten Fröschen eine Erkrankung, die unter Oedemerscheinungen zum Tode führte; es erkrankten jedoch nicht alle operierten Frösche. Die bakteriologische Untersuchung zeigte eine Infektion mit unserem Bacillus.

In der Literatur fanden wir in dieser Frage folgendes:

Ernst züchtete 1890 während einer Frühjahrsepidemie bei Fröschen einen Bacillus, der Gelatine rasch verflüssigte und dabei einen gelblich-grünen Belag bildete. Auf Agar wuchs er als schleimig-grünlicher Belag, auf Kartoffeln als schmutzig-grüner, zuweilen mit einem Uebergang ins Bräunliche; er sieht dem *Bac. fluorescens* Flüge ähnlich und ist nicht pathogen für Warmblüter.

Der von Arustamoff 1891 in Astrachan beim Stör, Beluga und Lachs gezüchtete Bacillus ähnelt etwas unserem, färbt sich jedoch nicht nach Gram, besitzt pathogene Eigenschaften für Hunde und Katzen und ist allem Anschein nach identisch mit dem *Bac. piscidus* ver-

sicolor Babes. Im Jahre 1893 züchtete Roger während einer Frosch-epizootie einen Bacillus, der dem früher von Sanarelli im Wasser entdeckten *Bac. hydrophilus fuscus* glich. Der Bacillus von Roger (*Bac. ranicidus*), ein kleines, bewegliches Stäbchen ist gram-negativ, verflüssigt rasch die Gelatine; auf Agar wächst es in der Gestalt eines dicken, weißen Belags, auf Kartoffeln bildet es einen dicken, dunkelbraunen Belag; Milch gerinnt, Serum verflüssigt sich. Der Bacillus ist pathogen für Frösche, Fische, Kaninchen, Meerschweinchen, junge Hunde, Katzen, Hühner und Tauben.

Alle diese Mikroben gehören zu derjenigen Gruppe, die sich nach Matsuschita durch Bildung eines grünen Pigments auszeichnet; zu ihr zählen unter anderen: 1) *Bac. pyocyaneus*, 2) *B. ranicidus*, 3) *B. fluorescens* Jaeger, 4) *B. Leucaemiae canis* Lucet.

Von Interesse ist der 1894 von Frau Sieber bei kranken Fischen im Bassin des Schlosses des Prinzen Oldenburg entdeckte Bacillus. Der untersuchte Zander sah ödematös aus; der aus ihm gezüchtete Bacillus war gramnegativ, verflüssigte rasch Gelatine unter Bildung eines weißen Belages; auf Agar war der Belag gelblich; in Bouillon bildete sich ein Häutchen, Milch gerann; Frösche gingen 12–24 Stunden nach der Infektion ein.

Wir hatten die Möglichkeit, die morphologischen und biologischen Eigenschaften unseres Bacillus sowohl mit denjenigen von 4 in unserem Laboratorium vorhandenen Kulturen des *B. proteus*, als auch mit 10 aus Králs Museum in Wien bezogenen, zu vergleichen. [1) *B. proteus* No. 27, 2) *B. Zenckeri* Hauser, 3) *B. mirabilis* Hauser, 4) *B. vulgaris* Hauser, 5) *B. Aujeszky ruber*, 6) *B. Zopfii*, 7) *B. piscidus versicolor*, 8) *B. hominis* I, 9) *B. v. Fleisch* I, 10) *B. v. Fleisch* II.] Keine von ihnen erwies sich identisch mit unserer Kultur. Am meisten ähnelt unser Bacillus dem von Maks beschriebenen *B. piscidus haemolyticus*, unterscheidet sich aber durch leichte Ueberimpfbarkeit auf alle Nährböden und durch ein anderes Wachstumsbild auf Agar usw.

Auf diese Weise sind wir zur Ueberzeugung gekommen, daß der von uns isolierte Bacillus mit keiner der zum Vergleich herangezogenen Kulturen identifiziert werden kann. Eine vorsichtige Immunisierung des Kaninchens mit unserer Kultur lieferte ein Serum, das einige der erwähnten Kulturen erst nach 16 Stunden und nur in der Verdünnung von 1:5 bis 1:10 schwach agglutinierte, während unser Bacillus von demselben Serum schon nach $\frac{1}{2}$ Stunden in einer Verdünnung bis 1:500 agglutiniert wurde.

Die kritische Sichtung des angeführten Materials überzeugte uns, daß der von uns erforschte Bacillus bis jetzt von keinem Autor beschrieben worden ist. Ueberhaupt sind die Infektionen der Kaltblüter noch wenig erforscht und bieten ein großes Arbeitsfeld. Unser Bacillus ist noch aus dem Grunde von Interesse, weil er Toxine bildet, gegen die auch Warmblüter, wie Meerschweinchen und Mäuse, empfindlich sind. Es ist daher denkbar, daß bei spontaner Infektion der Fische mit unserem Bacillus sein Toxin auf Menschen und Tiere, die solche Fische verzehren, einwirkt; es entstünde dann das Bild der sogenannten Fischvergiftung, analog den Vergiftungen mit Fleisch, das mit paratyphösen Bacillen infiziert ist. Auch von diesem Standpunkt aus verdient die Frage weiter erforscht zu werden.

Inzwischen haben wir festgestellt, daß das während 1 Stunde bis auf 78° erwärmte Toxin inaktiviert wird; wird es auf 72—75° erwärmt, so tötet es ein Meerschweinchen in verhältnismäßig großen Dosen im Laufe von 24—30 Stunden. Dies zeugt von einer gewissen Thermostabilität des Toxins. Die weitere Erforschung des Bacillus wird von uns fortgesetzt. Inzwischen erlauben wir uns folgende Schlüsse zu ziehen:

1) Der von uns isolierte Bacillus ist der Erreger einer bei Fröschen als Epizootie auftretenden Erkrankung.

2) Dieser Bacillus ist pathogen für einige Fische, den Krebs und folgende Warmblüter: Meerschweinchen, Kaninchen, Taube; bei letzteren trägt die Erkrankung den Charakter einer akuten Toxinvergiftung.

3) Der Bacillus bildet ein Toxin, gegen welches Meerschweinchen und weiße Mäuse empfindlich sind und während 24 Stunden unter Oedemerscheinungen mit Blutungen an der Impfstelle zugrunde gehen.

4) Der Bacillus kann leicht isoliert und gezüchtet werden und ist sehr bequem für Lehrzwecke, z. B. zur Demonstration der Phagocytose usw.

5) Auf Grund der beschriebenen Eigenschaften des Bacillus, der bei einer spezifischen Erkrankung des Frosches entdeckt wurde, nehmen wir an, daß für ihn die geeigneteste Bezeichnung sein wird **Bac. septicaemiae ranarum**.

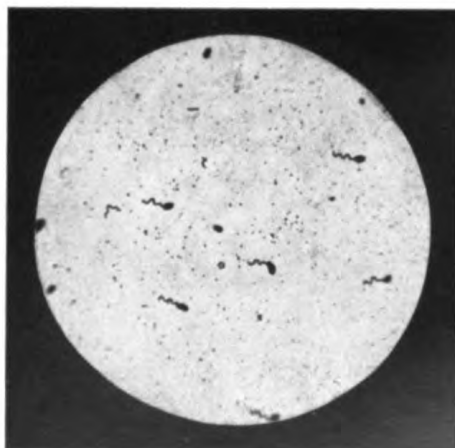
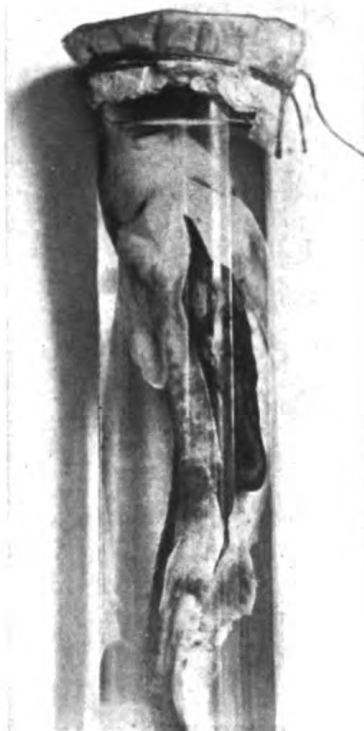
Literaturverzeichnis.

- 1) Sanarelli, Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891.
- 2) Fischel u. Enoch, Fortschr. d. Med. Bd. 10. 1892.
- 3) Roger, Compt. rend. Soc. Biol. 1893.
- 4) Ernst, Beitr. z. pathol. Anat. Bd. 8. 1900.
- 5) Hofer, Handb. d. Fischkrankh. 1906.
- 6) Kobert, Ueber Fischgifte. 1905.
- 7) Marks, Centralbl. f. Bakt. 1907.
- 8) Sieber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Sterlet, der 15 Tage nach subkutaner Injektion mit 1-tägiger Kultur unseres Froschbacillus eingegangen ist. An der Injektionsstelle Oedem mit Blutungen. Aufnahme mit Autochromplatte nach Lumière.

Fig. 2. Der stäbchenförmige Bacillus mit einer Geißel an einem Ende. Gefärbt nach Zettnow. Mikrophotogramm. Zeiss Immers. 1,5; Kompens.-Okular 6, Tubuslänge 160 mm.



v. L. phot.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens der Stuten

[Arbeit aus dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam
(Direktor Prof. Dr. J. Poels).]

Von **Berend Broer Lautenbach**, Tierarzt aus Rotterdam.

Literatur.

Die Ansichten über die Ursache des häufig auftretenden Abortus der Stuten haben, gleichwie bei jeder Infektionskrankheit, im Laufe der Zeit verschiedene Entwicklungsstadien durchmachen müssen. Auch hier hat man zuerst gedacht, es mit Ursachen, wie schlechten Ernten, nassen Jahreszeiten, der Luft der verworfenen Föten und ihrer Fruchthüllen, der Nachahmung des Verwerfens der Stuten untereinander und mit Miasmen zu tun zu haben, und erst allmählich fand die Ueberzeugung Eingang, daß es sich hier um eine durch Mikroorganismen verursachte Infektionskrankheit handle.

In der Literatur fand man verschiedene Bakterien als Ursache des in einigen Gegenden weit verbreiteten infektiösen Abortus angeführt, wiederholt fand man Vergleichen mit dem seuchenhaften Verwerfen der Rinder und dem dabei durch Bang gefundenen Bacillus. Zu völliger Uebereinstimmung ist man aber auch bis jetzt noch nicht gekommen.

Bereits im Jahre 1795 berichtet Flandrin das Folgende: Im Jahre 1784 verwarfen in Châlons Kühe und Stuten. Wegen sorgloser Behandlung derselben seitens der Eigentümer während und nach dem Abortus sind viele derselben unnötigerweise gestorben.

Zu Anfang des Jahres 1786 verwarfen in St. Maur verschiedene, dem Prinzen Condé gehörige Stuten. Die Tiere weideten auf einer Wiese und schienen in einem guten Gesundheitszustand zu sein. Gegen Ende Oktober, als Nachfröste auftraten, verwarf die erste Stute. Es folgten mehrere. Rabelsche Flüssigkeit mit einer krampfstillenden Infusion verdünnt, wurde in die Scheide eingespritzt.

In St. Marie du Néaut verwarfen 30 Stuten. Die Gegend war sehr neblig und der Boden äußerst fruchtbar.

Was die Ursache anbetrifft, so meint Flandrin und mit ihm viele andere Forscher (wie Tessier in Frankreich, Toegl in Böhmen und Nielsen in Dänemark), diese als infektiösen Charakters betrachten zu müssen. Viele Tierärzte jener Zeit empfehlen zur Bekämpfung der Krankheit, die verworfenen Früchte zu vernichten und den Aufenthaltsort zu desinfizieren.

Andere suchen die Ursache im Reif, dem Nebel usw.

Demoussy (1) bringt in seinen *Memoires sur les cheveux espagnols* in Erinnerung, daß in den Gestüten des spanischen Hofes jährlich bei 800 Stuten nur 100 ausgetragene Fohlen geboren wurden. Nach ihm soll die vornehmste Ursache dieser Unfruchtbarkeit in dem regelmäßig vorkommenden Uebergang von Futtermangel zu Futterüberfluß gelegen sein.

Nach dieser Zeit scheinen wieder Tierärzte den infektiösen Charakter der Krankheit vertreten zu haben. Hutrel von Arboval schrieb wenigstens im Jahre 1826: „Man hat sich nicht begnügt, das epizootische Auftreten des Abortus festzustellen, man nennt es auch kontagiös, aber auch hat man sich mit einem Irrtum belastet.“

Fischer (2) erzählt, daß im Jahre 1844 in den Dörfern des Maastales in Luxemburg wiederholt Stuten verwarfen.

Die inwendigen Organe der Kadaver waren verfärbt und erweicht, das Blut wässriger als normal.

Nach ihm soll das wichtigste ätiologische Moment in der schlechten Beschaffenheit des Futters gelegen sein.

Sempastour (3) verteidigt die Meinung, als ob der epizootische Abortus gewöhnlich auf eine fötale und nicht auf eine Krankheit des Muttertieres zurückzuführen sei.

Original from

UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

H. Bouley (4) erwähnt in seinem *Dictionnaire pratique de médecine, de chirurgie et d'hygiène vétérinaire* T. 2. p. 314 die Beobachtung von Delorme, der darauf hinweist, daß bei Pferden in der Camargue während der Zeit der strengsten Kälte und der härtesten Entbehrungen weniger Fälle von Abortus vorkamen; denn nach Dezember wurden sie selten.

Im *Recueil de médecine vétérinaire* T. 2. p. 714 erwähnt derselbe, daß im Gehöft Ham von 12 trächtigen Stuten 10 verwarfen, es waren sowohl Rasse- als auch Arbeitspferde, sowohl Stall- als auch Weidetiere, von verschiedenen Hengsten gedeckt. Nach ihm muß die Ursache hier auf Infektion zurückgeführt werden, was er durch die Tatsache begründet erachtet, daß in einem Stall, in welchem eine Stute gestallt wurde, die kurz vorher abortiert hatte, innerhalb kurzer Zeit sich mehr Fälle ereigneten.

Gsell (5) berichtet, daß im Jahre 1880 in Mondoubleau 180 Stuten verwarfen. Es gelang ihm durch Uebertragung von Scheidenausfluß von einer Stute, die kürzlich verworfen hatte, in die Scheide eines Versuchspferdes, in 9 Tagen Abortus zu erwecken.

Er sah besonders Metritis als Nachkrankheit auftreten.

„Das seuchenhafte Verwerfen“ sagt Saint-Cyr (6) „muß durch ein spezifisches Virus bedingt sein. Es hat eine konstante Virulenz und seine Wirkung bleibt sehr gleich, welches auch die individuellen Umstände der erkrankten Stuten oder die allgemeine Beschaffenheit ihres Aufenthaltsortes seien; mit einem Wort, es liegt ganz das Bild einer infektiösen Krankheit vor“.

Trinchera (7) berichtet über das Auftreten des infektiösen Abortus bei Pferden. Von 12 trächtigen Stuten verwarfen innerhalb 40 Tagen deren 9. Eine Infektion vom benachbarten Kuhstall, mit dessen Insassen auch direkte Berührung möglich war, mußte mangels der Krankheit in diesem ausgeschlossen werden.

Dr. Kilborne (8) impfte bei seiner Untersuchung in Pennsylvanien im Jahre 1890 Agarröhrchen mit Vaginasekret einer Stute, welche kurz vorher verworfen hatte.

In Reinkulturen wuchs eine Art Bacillen, die so sehr Hog-Cholera-bacillen gleichen, daß man sie als solche hätte ansprechen können, wenn man sie während einer Schweinepestepidemie gefunden hätte. Die Pathogenität für kleine Versuchstiere stimmt mit jener von schwach virulenten Schweinepestbacillen überein.

Bouillonkulturen wurden in die Scheide einer trächtigen Stute und von zwei trächtigen Rindern eingespritzt. Leukorrhoea und katarrhalische Erscheinungen traten nach ein oder zwei Tagen auf. Keins der Tiere verwarf.

Bei Untersuchung ergab sich, daß dieser Bacillus weder in der Scheide von trächtigen, noch in jener von nicht-trächtigen Tieren vorkam.

Kilborne lenkt die Aufmerksamkeit auf die Frage, ob Infektion von Schweinepestbacillen des Schweines auf trachtige Stuten würde stattfinden können.

Turner (9) berichtet das Folgende:

„Die Eihäute der abortierenden Stuten waren auffällig verändert; sie trugen die Zeichen purulenter Entzündung und befanden sich auch in Zersetzung.“

Aus solchen Eihäuten, wie aus dem Blute und aus Organen eines mit der Lähme behafteten Fohlens wurden Kulturen ein und desselben Bakteriums gewonnen. Injizierte man solche Kulturen trächtigen Stuten in die Scheide, so erfolgte bald Abortus, und war in solchem Falle das Junge nahezu ausgetragen, so bekam dieses auch sogleich die Gliederkrankheit.

Somit erwies sich, daß der Abortus und die Lähme dieselbe belebte Ursache hatten!“

Penburthy (10) erinnert daran, daß das seuchenhafte Verwerfen beim Rinde viel häufiger vorkommt als beim Pferde. Seiner Meinung nach scheint die Ursache bei beiden Tierarten durchaus nicht dieselbe zu sein, und doch haben die Vorkommnisse große Ähnlichkeit miteinander.

Es ist nicht an gewisse Rassen gebunden und ist unabhängig von der Reinlichkeit (?).

Das Verwerfen tritt regelmäßig nach dem Verlauf des 1. Drittels der Trächtigkeit ein, selten früher. Der Vorgang kann unvermittelt eintreten oder es gehen ihm Vorboten voraus.

Nur in seltenen Fällen folgen dem Akte erhebliche Störungen bei der Mutter, die Affektionen betreffen regelmäßig nur die Eihäute und den Foetus.

Penburthy nimmt an, daß die Ursache eine bakterielle sei, die sich leicht übertragen kann. Sie nistet sich in einem Stalle leicht ein, weicht aber gründlichen Desinfektionen.

Die entleerten Uterusinhaltmassen müssen als gefährlich betrachtet und sorgsamst beseitigt werden. Stuten, welche abortiert haben, müssen isoliert und mit milden bakteriziden Mitteln örtlich behandelt werden.

Diesen Grundsätzen folgend, konnte Penburthy stets bald den von ihm beobachteten Ausbrüchen der Seuche Herr werden.

In 4 Gehöften einer Gemeinde verwarfen, wie Schöttler (11) berichtet, während der Herbstzeit innerhalb $2\frac{1}{2}$ Monaten von 28 Stuten 15 im 4.—7. Monat der Trächtigkeit. Schwellung des Euters und Ausfluß schleimiger oder eitriger Sekrete aus der Scheide gingen dem Abortus 3—4 Tage voraus.

Zwischen den einzelnen Fällen in einem Stalle vergingen 8—12 Tage.

Die ausgestoßenen Früchte waren bei der Geburt tot.

Die Krankheitserscheinungen der Muttertiere verloren sich bald von selbst, ohne das Allgemeinbefinden bemerkenswert beeinflußt zu haben.

Desinfektion der Genitalien und des Stalles, rasche Beseitigung der Föten und der Nachgeburten, Wegbringen der gesunden trächtigen Stuten aus der Nähe der erkrankten bildeten die prophylaktischen Maßregeln der Behandlung und führten wenigstens bei den übrigen Stuten zum Ziel.

Bang (12) erweckte im Jahre 1897 Abortus bei Stuten durch Injektion von 25 ccm Kultur seiner Abortusbacillen in die Jugularis. Er führte damals diese Krankheit auf diese Bacillen zurück, die von der Kuh auf das Pferd übertragbar sind. Auf Grund seiner Untersuchungen versichert er im Jahre 1900, daß die Infektion häufig bei der Kopulation stattfindet.

Das Pferd reagiert auf Abortusbacillen der Kuh, und das Inkubationsstadium dieses Kontagiums kann verschiedene Monate betragen.

W. L. Williams (13) wurde in einen Stall von 25 Zuchtstuten, die angeblich trächtig sein sollten, gerufen. Eine einzige wurde zu leichter Arbeit verwendet und alle waren gut gepflegt. Die zur Arbeit verwendete Stute verwarf zuerst, im November 1895, dann nach und nach drei weitere Stuten.

Am 7. Febr. wurde der Autor zu einer jungen Stute gerufen, welche seit einigen Stunden Geburtswehen hatte; die Gliedmaßen des Foetus waren schon zersetzt und verfärbt und hingen aus der Scheide heraus. Der Foetus war in einer fehlerhaften Lage, aber mühelos konnte diese berichtigt und die Geburt beendet werden. Das Junge schien 8 Monate alt zu sein.

Nach Entfernung der Nachgeburt desinfizierte man den Uterus mit einer Phenollösung. Die Stute wurde gut gepflegt und schien zuerst sich auf dem Wege der Genesung zu befinden; sie ging dann rasch in der Nacht vom 8. auf den 9. Februar zugrunde. Alle Organe, mit Ausnahme der Geschlechtsorgane, wurden bei der Sektion gesund befunden. Der Uterus war hart, voluminös und mit einer großen Menge trüber stinkender Flüssigkeit angefüllt; das Collum uteri und die Vagina enthielten im Gegenteil ein krupöses, gelbes, schmutziges, dickes Exsudat von fauligem Geruch. Das Tier hatte inmitten 15 anderer trächtiger Stuten geföhlt; man führte diese rasch heraus und bei jeder der anderen Stuten wurde die Scheide mit einer 1-prom. Sublimatlösung ausgespült. Außerdem machte man täglich Waschungen der Schwanzwurzel, des Wurfes und des Mittelfleisches etc. mit der gleichen Lösung.

Während der Nächte des 26., 27. und 28. Febr. verwarfen 3 Stuten ohne weitere Vorzeichen; die kranken Tiere wurden isoliert, die Föten und die Eihüllen und die Einstreu sorgfältig entfernt und verbrannt; die Ställe durch Räucherung mit schwefliger Säure desinfiziert und nicht mehr besetzt. Endlich verdoppelte man die antiseptischen, präventiven Waschungen. Nach einiger Zeit abortierte eine Stute, welche mit den kranken gar nicht in Berührung gekommen war; obschon man den Uterus sorgfältig desinfiziert hatte, entwickelte sich nach 24 Stunden eine schwere Metritis, welche übrigens bald der Behandlung wich. Von dieser Zeit an verschwand der Abortus, und die Stuten, welche der Ansteckung entgangen waren, warfen in normaler Weise.

M. G. de Bruin dozierte das Folgende:

Im Winter 1884/1885 verwarfen in den im oberen Teile des Bommelerwaard gelegenen Gemeinden Kossem und Driel 60 Proz. der trächtigen Stuten.

Das Verwerfen trat in den Monaten Dezember, Januar und Februar auf, im 7., 8. und 9. Monat der Trächtigkeit.

Die wiederholt konstatierte Uebertragung der Krankheit von einer Stute auf die andere, die Verbreitung des Leidens längs den Jaucherinnen, wie auch die Infektion anderer Ställe vermittelt Stroh und Mist lassen über den kontagiösen Charakter der Krankheit keinen Zweifel aufkommen.

Im Jahre 1898 trat die Krankheit an derselben Stelle wiederum auf. Man beobachtete, daß die Stuten, welche vorher verworfen hatten, wieder trächtig wurden, und bestätigte sich die Vermutung von einer erworbenen Immunität dieser Tiere.

Die Symptome des seuchenhaften Abortus sind nach de Bruin so spezifisch, daß sie direkt den infektiösen Charakter verraten. Einen oder mehrere Tage vor dem Eintreten der Frühgeburt fließt eine schleimig-eitrige, mehr oder weniger blutige Flüssigkeit aus der Scheide, es treten dann einige leichte Kolikanfälle auf und bald ist der Foetus ausgestoßen. Die Fruchthüllen kommen mit dem Foetus oder bleiben zurück.

Bisweilen fließt die Amnionflüssigkeit vor der Geburt vollständig fort und ein

Teil des Chorions hängt außerhalb der Scheide, während der Foetus noch im Uterus bleibt.

Die Geburt findet häufig in dorso-sacraler Lage statt, der Kopf hängt dann seitwärts. Da der Foetus in dieser Periode der Trächtigkeit noch klein ist, kann er mühelos extrahiert werden.

Nach dem Werfen des häufig noch lebenden, aber bald zugrunde gehenden Jungen, bemerkt man bei den meisten Stuten eine kurz andauernde Temperatursteigerung bis $40,5^{\circ}$ und 41° . Geht die Nachgeburt jedoch nicht ab, dann bleibt die Temperatur hoch. Dieser Zustand bringt Gefahr mit. Eine sofortige Entfernung der Nachgeburt ist dann notwendig und müssen sofort Scheidespülungen mit schwachen Lösungen des einen oder anderen Desinfektionsmittels stattfinden.

Obwohl die Stuten schnell genesen, bleiben die Ausflüsse noch 8—20 Tage bestehen.

Die bei seuchenhaftem Abortus zu Anfang oder in der Mitte des 11. Monats verworfenen Fohlen sterben kurze Zeit nach der Geburt.

Nach de Bruin werden genaue Sektionen dieser Fohlen und bakteriologische Untersuchungen der Amnionflüssigkeit des Uterussekrets interessante Dinge zutage fördern.

In seinem Artikel „Untersuchungen über Fohlenlähme“ verteidigt Hugo Sohnle (14) die Ansicht, daß Fohlenlähme und seuchenhaftes Verwerfen der Stuten ein und derselben Natur seien, und zwar so, daß:

„Solange das mütterliche Blut im Foetus kreist, gehört eine Allgemeininfektion des fötalen Körpers zu den Seltenheiten. Findet eine solche statt, so wird der Foetus abortiert. Die fötalen Placenten finden sich dann regelmäßig krankhaft verändert und zeugen davon, daß die Infektion diesen Weg in den noch unreifen Körper gewählt hat. Nach Zerstörung des Epithelmantels gelangen die Bakterien in die Kapillaren der Nabelvene, in die Leber und den allgemeinen Kreislauf.“

Bei den ausgetragenen Tieren ist der Krankheitserreger meist im Urachus, zuweilen auch schon in den Lymphdrüsen oder in einem bestimmten Körperorgan lokalisiert und beginnt von dort aus bei günstigen Bedingungen seinen allgemeinen Vernichtungszug.“

Der Erreger der Lähme, also auch des Abortus, ist nach ihm ein Kapselcoccus; man findet ihn gewöhnlich als Diplococcus, mehrmals als Tetracoccus. Seine Größe schwankt zwischen $0,5-1 \mu$.

Die von einem Hof umgebenen Kokken färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben, sowie nach Gram.

Sie wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden gut, nach 40 Stunden verflüssigt sich die Gelatine.

In alkalischer Peptonbouillon erfolgt allgemeine Trübung, die Flüssigkeit klärt sich jedoch bald über einem Bodensatz.

Sterile Milch fängt, bei 37° gehalten, nach 48 Stunden langsam zu gerinnen an; die Gerinnung ist erst in ca. 3 Wochen vollständig. Auf zuckerhaltigen Nährmedien erfolgt keine Gasentwicklung, auf alkalischen Nährböden tritt Säurebildung ein.

Die Kulturen geben die Nitrosindolreaktion nicht.

Der Erreger zeigt im hängenden Tropfen keine selbständige Bewegung.

Der Autor betrachtet den Erreger der Fohlenlähme als eine Varietät des *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Dieser *Staphylococcus* erwies sich pathogen für Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen, indem die zwei von Sohnle mit 5 ccm Bouillonkultur in die Blutbahn injizierten Pferde nach 4 und 5 Tagen starben.

Die Veröffentlichung Sohnles gab Prof. Dr. Ostertag (15) Veranlassung, über das Ergebnis von Untersuchungen zu berichten, welche er im Auftrag des Königl. Preussischen Landwirtschaftsministeriums ausgeführt hatte.

Das Resultat seiner Untersuchungen legte er in seiner Publikation: „Zur Aetiologie der Lähme und des seuchenhaften Abortus des Pferdes“ fest, und zwar folgendermaßen:

„Das Resultat meiner Untersuchungen über die Lähme deckt sich mit den von Sohnle gewonnenen Versuchsergebnissen nicht. Ferner habe ich festgestellt, daß seuchenhaftes Verfohlen, das Sohnle in seiner Arbeit wohl mit im Auge hatte, als er für bestimmte Fälle einen Zusammenhang zwischen Abort und Lähme annahm, eine andere Aetiologie besitzt als die Lähme.“

Es ist hier nicht die Stelle, seinen Untersuchungen über die Lähme zu folgen; es genügt zu erwähnen, daß es ihm gelungen ist, zu zeigen, daß nicht ein *Staphylococcus*, sondern der *Streptococcus pyogenes* die Ursache dieser Fohlenkrankheit ist.

Vielmehr interessierten mich seine Untersuchungen über das seuchenhafte Verwerfen, welche er anstellte an 15 Früchten und deren Hüllen.

Bei allen Früchten, ausgenommen ein Fohlen, das in Graditz 17 Tage zu früh geboren worden war und einige Stunden nach der Geburt starb, konnten folgende Veränderungen nachgewiesen werden:

„Die Lederhaut (Chorion) war gleichmäßig dunkelrot gefärbt und das unter ihr gelegene (subchoriale) Bindegewebe infolge Ansammlung einer wasserklaren Flüssigkeit bald mehr, bald weniger stark verdickt (subchoriales Oedem). Eine ähnliche Verdickung bestand an dem Nabelstrange; sie war bedingt durch die Ansammlung von Flüssigkeit in der sogenannten Warthonschen Sulze. Von der Oberfläche der Lederhaut ließ sich eine geringe Menge einer grauen, schmierigen, geruchlosen Flüssigkeit abstreichen.

An der Hornhaut und Schafhaut fanden sich keine Veränderungen. An dem Fötus selbst waren die Erscheinungen der Gelbsucht in verschiedenen Graden nachzuweisen (besonders Gelbfärbung der Sklera, des Unterhautbindegewebes, der fibrösen Häute und der Markscheid der Niere). Im freien Raume der Bauch- und Brusthöhle, sowie im Herzbeutel war regelmäßig eine Ansammlung einer goldgelb gefärbten, klaren Flüssigkeit zu finden. Die Menge der Flüssigkeit betrug im freien Raume der Bauchhöhle bis zu 2 Litern, in den Brustfellsäcken bis zu 4 Litern und im Herzbeutel 1–3 Eßlöffel. Endlich waren regelmäßig eine graue Verfärbung und mürbe Beschaffenheit des Herzmuskels, sowie Blutungen unter dem Herzüberzug (Epicard), am Herzbeutel und unter dem Lungenfell festzustellen.

Die mikroskopische Prüfung des schmierigen Lederhautbelages ergab die Anwesenheit zahlreicher Epithelzellen, die mikroskopische Untersuchung des krankhaft veränderten Herzmuskels das Vorhandensein kleiner Körnchen in den Muskelfasern, welche auf Zusatz von Essigsäure verschwanden (trübe Schwellung).

Bakteriologisch gelang es ihm, gegen seine Erwartung, nicht, die von Bang beim seuchenhaften Verhalten der Rinder gefundenen Abortusbacillen nachzuweisen. Wohl aber fand er in 7 Fällen in Reinkultur, und in den übrigen vermischt mit anderen Bakterien, Kugelbakterien, welche zu zweien und in kurzen Kettchen angeordnet waren und die Gramsche Färbung nicht annahmen. In den Ausstrichpräparaten aus dem Chorionbelage fand er im Zelleibe von Epithelien, zu zwei und mehr Exemplaren eingeschlossen, Bakterien, die in ihrer Form sowie in ihrem Verhalten gegenüber Farbstoffen mit den in anderen Teilen vorgefundenen Kokken übereinstimmten.

Zum Vergleich sind die Eihüllen von zwei Fohlen untersucht worden, welche unter völlig normalen Umständen geboren worden sind. Bakteriologisch fand Ostertag neben freiliegenden, schlanken und plumpen Stäbchen, lange großgliedrige, grampositive Streptokokken.

Die gefundenen kurzen Streptokokken erwiesen sich nicht pathogen für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen.

Vorgenommene Vergleiche mit dem im Jahre 1899 von Bongert aus dem Gehirn eines Fohlenkadavers isolierten Streptococcus ergaben, daß dieser in allen Merkmalen übereinstimmte mit dem durch den Autor gefundenen Coccus.

Zwei hochtrachtige Ziegen wurden von Ostertag geimpft, beide trugen regelrecht aus, während von vier von ihm infizierten Stuten zwei abortierten und zwei ein sehr schwaches Fohlen gebaren.

Die anatomischen und bakteriellen Befunde stimmten ganz überein mit den bei natürlicherweise abortierten Früchten.

Diese Versuche sollen nach Ostertag den sicheren Beweis gebracht haben, daß in Graditz und Hoppegarten seuchenhaftes Verfohlen herrschte, und daß die aus den Eihüllen und den Kadavern der abortierten Früchte gezüchteten Kokken den Ansteckungsstoff dieses Verfohlens bilden.

Die an 10 Kühen angestellten Uebertragungsversuche sind völlig negativ ausgefallen, mithin dürfte auch erwiesen sein, daß der Ansteckungsstoff des seuchenhaften Verfohlens mit demjenigen des seuchenhaften Verkaltens nicht identisch ist.

Dann gibt Ostertag folgende Schlußfolgerungen für die Bekämpfung des seuchenhaften Verfohlens:

1) Unschädlichmachung der verworfenen Früchte, Fruchthüllen und der Streu, durch Uebergießen mit 1-proz. Sublimatlösung und nachheriges metertiefes Eingraben.

2) Gründliche Desinfektion der Standplätze und Jaucherinnen vermittelst Sublimat. Die Arbeiter müssen gehalten sein, nach getaner Arbeit Hände und Schuhwerk zu desinfizieren.

3) Bei Verwerfen während des Weideganges muß die betreffende Weide während 3 Monaten für trachtige Stuten geschlossen bleiben.

4) Die Scheide der Stuten, welche verworfen haben, ist bis zum Schließen des Muttermundes täglich zweimal mit 1-proz. Lysollösung auszuspielen. Gleichzeitig ist anfangs die Umgebung der Vulva mit derselben Lösung gut zu reinigen.

5) Solange diese Irrigationen stattfinden, sind die Stuten von den anderen gesondert zu halten und müssen durch einen besonderen Knecht gepflegt werden. Jede Stute muß ihr eigenes Putzgerät behalten.

6) Nach Ablauf der Irrigationen müssen die Standplätze nochmals gut desinfiziert werden.

7) Erst 6 Wochen nach Ablauf der normalen Trächtigkeit dürfen die Stuten aufs neue zum Hengst geführt werden.

8) Nach jeder Deckung muß der Hengst desinfiziert werden, also auch dann, wenn scheinbar gesunde (Infektionsstoffträger) Stuten gedeckt werden.

Desoubry (16) sah im Jahre 1901 die ersten Fälle auftreten. Bei seinen Beobachtungsfällen war der Verlauf so typisch, daß eine 24–36-stündige Beobachtung der Stute nach dem Abortus zur Feststellung genügte, ob das Verwerfen auf einer infektiösen oder anderen Ursachen beruhte. Verbote fehlen in der Regel.

Wenn keine Hindernisse anwesend sind, geht die Geburt schnell und leicht vonstatten.

Die Inkubationszeit beträgt nach Desoubry ungefähr 21 Tage.

Nach dem Verwerfen steigt die Temperatur bis 40° und höher, die Conjunctiva ist dunkelrot, der Allgemeinzustand ist beunruhigend, aber schon nach 2 Tagen verschwinden die Symptome.

Häufig bleiben die Fruchthüllen zurück und tritt ein eitriger, übel riechender Ausfluß auf, der jedoch nach Behandlung bereits nach einer Woche verschwindet.

Die Stuten dürfen ihren Standort nicht verlassen, die noch trächtigen Tiere müssen sofort in anderen Ställen untergebracht werden.

Das Pflegepersonal der kranken Tiere muß jede Berührung mit noch gesunden Stuten vermeiden.

Während der Fieberperiode erhalten die Tiere 10 g Chinin per os, und muß die Gebärmutter wenigstens 8 Tage mit einer 0,2-proz. auf 40° erwärmten Kali permanganicumlösung ausgespült werden.

Nach 2 Monaten können die Stuten aufs neue gedeckt werden, 5–6 Stunden vor dem Decken läßt Desoubry 1 Liter physiologischer Kochsalzlösung in den Uterus fließen. Nach ihm sollen derartig behandelte Stuten im selben Jahre wieder trächtig werden.

In seinem Artikel: „Ueber den epizootischen Abortus der Stuten“ bespricht J. Guillerey (17) im Arch. f. Tierheilk. Bd. 29. p. 37, das seuchenhafte Verwerfen der Stuten, indem er zunächst die in der Literatur verzeichneten Beobachtungen über dieses Leiden und die von De Bruin beobachteten und ihm mitgeteilten Fälle schildert und sich sodann seinen eigenen Beobachtungen über diese für das tierbesitzende Publikum wichtige Seuche zuwendet.

Auf Grund seiner eigenen Feststellungen unterscheidet Guillerey eine gutartige und eine bösartige Form des infektiösen Abortus; von denen die erstere viel häufiger als die letztere beobachtet wird. Sie unterscheiden sich durch die Zeit, in der sie auftreten, durch den jeder Form eigentümlichen Symptomenkomplex, durch die Dauer des Inkubationsstadiums und vor allem durch die darauf folgenden Komplikationen.

Die gutartige Form kommt zu allen Zeiten der Trächtigkeit, aber am meisten in der Zeit des 4. bis 7. Monats vor.

Vor dem Verwerfen scheint die Stute sich in bester Gesundheit zu befinden; die Freßlust, die Arbeitsfähigkeit sind normal. Bis zum 7. Monat findet die Ausstoßung des Foetus ohne Schwierigkeiten statt. Sie wird eingeleitet durch dumpfe Kolik und leichte Wehen.

Der Foetus wird meist in den Eihüllen geboren oder diese folgen bald nach. Die Eihüllen sind leicht verändert, von brauner Farbe mit roten Blutpunkten, mit einem graulichen Ueberzug, oft ödematös. Die Blutgefäße sind schwach entwickelt und die Verbindung der Eihäute mit dem Uterus ist eine lockere, und der Uterus zieht sich schnell zusammen.

Der grau-weiße, schleimig-eitrige Scheidenausfluß, der 2–3 Tage vor der Geburt eintritt, dauert noch während 2–3 Tagen an. Der Wurf und die Milchdrüsen verkleinern sich bis zur normalen Größe, nach 4–5 Tagen ist alles vorbei und das Tier arbeitsfähig.

Bei dieser Form sind nur einige hygienische Maßregeln anzuordnen.

Die bösartige Form. Gerade wie beim spontanen Verwerfen ist der Abortus schlimmer, und die Fälle der Nachkrankheiten zahlreicher vom 7. Monat der Trächtigkeit an.

Die Inkubationsdauer beträgt bei der leichten Form im Mittel 12 (8–18) und bei der schweren Form im Mittel 4 (3–5) Tage; die Ausbreitung der Seuche von einem Orte auf die Nachbarschaft kann rasch und langsam erfolgen und sich im letzteren Fall über mehrere Monate ausdehnen.

Oft geht das Verwerfen mit Komplikationen einher, z. B. Metritis, dem Zurückbleiben der Nachgeburt mit infektiöser Metritis, infektiöser Sehnenentzündung, Hämoglobulinurie, Phlebitis, Mastitis etc.

Während das spontane Verwerfen auf die verschiedensten Ursachen zurückführbar ist, ist der seuchenhafte Abortus stets contagiöser Natur; der Ansteckungsstoff ist sicher ein parasitärer Mikroorganismus, der durch die Vulva und Vagina eindringt.

Die Verschleppung des Ansteckungsstoffes, dessen Träger besonders Mensch und Pferd sind und der ein sogenanntes fixes Kontagium ist, findet in verschiedenster Weise statt. Bei der Prophylaxis und Behandlung der Seuche kommen die bekannten Grundsätze in Anwendung.

Poljakow (18) bespricht die in den Jahren 1894 und 1902 in dem Chrenowoischen Gestüt aufgetretene Epizootie des seuchenhaften Verwerfens der Pferde und fügt dem die Resultate seiner bei der letzten Seuche ausgeführten Untersuchungen hinzu.

Im Jahre 1894 begann das Verwerfen anfangs März gleichzeitig in drei Abteilungen des Gestüts und dauerte bis Ende April.

Es verwarfen insgesamt 42 Stuten, außerdem kamen 16 Füllen schwächlich und 38 mit Knochenbrüchigkeit behaftet zur Welt. Das Verwerfen trat ohne jegliche Vorboten größtenteils im 9.—10. Monat der Schwangerschaft ein.

Bei 37 Stuten trat nach dem Verwerfen Gebärmutterentzündung ein, an deren Folgen 11 Tiere fielen.

Die Maßnahmen bestanden in Desinfektion, Verringerung der Haferration und stärkere Bewegung für die Stuten.

Die zweite Seuche begann im Herbst 1901 (im 5.—7. Monat der Schwangerschaft) und erreichte ihren Höhepunkt im Januar (8.—10. Monat der Schwangerschaft).

Es verwarfen oder brachten schwächliche resp. knochenbrüchige Fohlen zur Welt, 70 Stuten = 30,4 Proz. der Gesamtzahl.

Bei beiden Seuchengängen war das verfütterte Heu bei ungewöhnlich starker Hitze geerntet worden. Herbst und Winter aber zeichneten sich durch ihre warme und feuchte Witterung aus.

Aus seinen Untersuchungen und Beobachtungen zieht der Autor folgende Schlüsse:

1) Das in Chrenowoi beobachtete und dort in Zwischenräumen von ca. 10 Jahren wiederkehrende Verwerfen ist seuchenhaft-infektiösen Charakters.

2) Das seuchenhafte Verwerfen tritt am häufigsten im 9.—11. Monat der Trächtigkeit auf. Zumeist werden davon die bestgenährten und erstgebärenden Stuten betroffen. Die Seuche setzt ein mit der Geburt schwächlicher, zuweilen auch knochenbrüchiger Fohlen, auf der Höhe ihrer Entwicklung äußert sie sich durch Aborte und das Ende bilden wiederum Geburten von mit Knochenbrüchigkeit behafteten Fohlen.

Das gleichzeitige Auftreten des infektiösen Abortus bei Kühen wurde nicht beobachtet.

3) Eine Erkrankung im Stall der Reihe nach wurde nicht beobachtet.

4) Das seuchenhafte Verwerfen ist meistens von einer Gebärmutterentzündung begleitet, die bei starker Virulenz des Kontagiums zu einer tödlich verlaufenden Septikämie führen kann.

5) Disponierend wirken: ein übermäßig guter Ernährungszustand der Stuten, sowie eine veränderliche, abnorm warme und feuchte Witterung im Herbst und Winter.

6) Der Sektionsbefund abortierter, schwächlich und knochenbrüchig geborener Fohlen, sowie der infolge von Gebärfieber gefallenen Stuten ist ganz analog und läßt a priori auf die ätiologische Zusammengehörigkeit all dieser Prozesse schließen. Die hauptsächlichsten Symptome sind: Entartung der parenchymatösen Organe; Blutungen in den serösen Häuten und dunkles flüssiges Blut, überhaupt Symptome septikämischer Natur.

Zu Anfang und gegen Ende der Seuche, d. h. bei geringerer Virulenz des Kontagiums, sind diese Erscheinungen nur wenig ausgeprägt oder fehlen ganz.

7) Daher kann eine genaue Diagnose nur auf Grund bakteriologischer und mikroskopischer Untersuchungen gestellt werden. Der Bacillus hat mit dem Bangschen Abortusbacillus nichts gemein.

Die Infektion erfolgt ausschließlich durch das Futter.

Die Inkubationszeit beträgt ca. 10 Tage (Leider haben die auf der bakteriologischen Station des Veterinärinstituts zu Jurjew angestellten Kontrollversuche die Wirksamkeit dieses Bacillus nicht bestätigen können).

8) Die Maßnahmen sind in ersterer Linie auf die bakteriologische Untersuchung des Futters, auf den vollkommenen Wechsel des Futters und auf die Abtötung des Infektionserregers im Blut des infizierten Tieres zu richten.

Hiernach, nach bereits eingetretenem Abort, ist eine gründliche Desinfektion und langdauernde Isolierung der abortierten Stuten die Hauptsache.

Wie aus ihrer Publikation „Seuchenhafter Abortus der Haustiere“ (19) hervorgeht, vertreten Prof. R. v. Ostertag und Prof. W. Zwick die Meinung, daß der seuchenhafte Abortus der Stuten durch den von Ostertag gefundenen kurzen Streptococcus verursacht wird. Neue Tatsachen werden in dieser Abhandlung nicht publiziert.

Es ist bedauerlich, daß diesem Artikel keine Mikrophotographie des Streptococcus des Pferdeabortus beigefügt ist, wie dies mit dem Bangschen Abortusbacillus des Rindes wohl der Fall ist.

Eigene Untersuchungen.

A. Untersuchung von Föten, Fruchthüllen etc.

Bereits im Herbst der Jahre 1909 und 1910 war von einigen Tierärzten die Hilfe des Reichsseruminstituts zu Rotterdam erbeten worden in Verbindung mit dem Vorkommen mehrerer Fälle von Verwerfen von Stuten in demselben Stall, so daß ein seuchenhaftes Leiden vermutet wurde.

Aus der vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung einiger eingesandter verworfener Föten und Fruchthüllen ergab sich, daß in diesen stets Bacillen vorkamen, zur großen Gruppe der paratyphusartigen gehörig, und ihren Eigenschaften entsprechend sehr der Hog-Cholera-gruppe ähnlich.

Im Herbst des Jahres 1911 traten wiederum in einzelnen Gegenden derartige Fälle auf und war bereits einiges Material zur Untersuchung eingesandt, was mir durch Prof. Dr. J. Poels wohlwollend zur Verfügung gestellt wurde.

Foetus I.

Hiervon waren aus den folgenden Organen Kulturen angelegt: Bauchflüssigkeit, Leber, Milz, Herzmuskel, Herzhinhalt.

Untersucht wurde vermitteltst des gewöhnlichen Plattenverfahrens. Folgende Resultate ergab die Untersuchung:

Neben einigen anderen Bakterien, wie Staphylokokken, *Bac. proteus* usw., welche einer Verunreinigung des Materials zugeschrieben werden müssen, kamen darin Kolonien eines mit dem *Bac. suis-pestifer* weit übereinstimmenden Bakteriums vor.

Nach Züchtung in Reinkultur ergaben sich die folgenden Eigenschaften:

	Bacillus A.
1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Gerinnt in 36 Stunden, schwache Säurebildung
Endo-Agar	Rote Kolonien auf rotem Boden
Lackmusmolke	Rotfärbung
Conradi, Drigalski	Rote Kolonien
Eijkman, Bouillier	Keine Verfärbung oder Gasentwicklung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Beweglichkeit?	Schwache Eigenbewegung
Gram-Färbung	Keine Färbung nach Gram.

Was das Wachstum auf den verschiedenen Medien anbetrifft, wurde das Folgende konstatiert.

Agar-Agar	Blauweiße, scharf umschriebene Kolonien
3 Proz. Glycerinagar	Farbe wie auf Agar, Wachstum schneller
5 Proz. Pferdeserumagar	Farbe wie auf Agar, Wachstum schneller
Gelatine	Weißer Kolonien, Wachstum langsam
Pferdebouillon	} Bouillon wird gleichmäßig trübe.
Rindernbouillon	

Es hat sich erwiesen, daß diese Bacillen bei 46° nicht mehr wachsen, bei Zimmertemperatur jedoch wohl.

Morphologie: Kleine Stäbchen.

Kapselfärbung: Mit den dafür gebräuchlichen Methoden konnten keine Kapseln nachgewiesen werden.

Pathogenität: Dieser *Bacillus A* schien für die angewendeten Versuchstiere Mäuse, Caviae, Kaninchen und Tauben, nicht pathogen zu sein.

Oben beschriebenes Kulturverhalten, seine Fähigkeit zur Farbstoffaufnahme und sein Aussehen veranlaßten mich, diesen Bacillus unter die Paracolibacillen zu rangieren.

Foetus II.

Hiervon waren Kulturen aus Leber, Milz, Bauchflüssigkeit, Herz, Blut und Nabelgefäßen anwesend.

Das ursprüngliche Material gab den Eindruck vollkommener Reinheit, die angelegten Agar-Agarplatten verstärkten diesen Eindruck. Impfungen in Zucker und Ausstriche auf Gelatine ließen einen Unterschied zutage treten.

Zwei Bacillen wurden isoliert. Einer stimmte in seinen Eigenschaften vollkommen mit dem oben beschriebenen Bacillus A überein, während der zweite, durch mich Bacillus B genannte, die folgenden Eigenschaften aufwies:

1 Proz. Traubenzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen
Endo-Agar	Weißer Kolonien auf farblosem Boden
Lackmusmolke	Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien
Eijkman-Bouillier	Keine Verfärbung, keine Gasentwicklung
Gelatine	Nicht verflüssigt, flach wachsende Kolonien
Beweglichkeit?	Schwache Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Gram negativ

Die Kultureigenschaften waren die folgenden:

Agar-Agar	Blauweiße Kolonien
3 Proz. Serumagar	Wie auf Agar-Agar
5 Proz. Glycerinagar	Wie auf Agar-Agar
Gelatine	Flach wachsende Kolonien
Pferdebouillon	} Beide gleichmäßig trübe.
Rinderbouillon	

Morphologie: Morphologisch stimmte der Bacillus B vollkommen mit dem Bacillus A überein.

Pathogenität: Auch dieser Bacillus erwies sich als nicht pathogen für Mäuse, Caviae, Kaninchen und Tauben.

Foetus III.

Von Foetus III waren Kulturen angelegt aus Leber, Milz, Bauchflüssigkeit, Mageninhalt, Herz, Blut und Nabelgefäßen.

Isoliert konnten werden neben einigen Verunreinigungen wie Staphylokokken, Bac. proteus und Coli commune ein grampositiver Streptococcus (Bact. C).

Foetus IV.

Verkehrte in vorgeschrittenem Verwesungszustand. Die hiervon angelegten Kulturen (aus Fruchthüllen, Herz, Blut und Blutgefäßen, Leber, Milz und Mageninhalt) waren total mit dem Bac. proteus vulgaris überwuchert.

Foetus V.

Von diesem Foetus fand ich Kulturen aus Blutgefäß-Fruchthülle, Fruchthüllen, Augapfel, Herz, Leber, Milz und Mageninhalt.

Isoliert wurden auf Agar-Agarplatten neben Verunreinigungen der Bacillus B und der Bacillus D.

Die Eigenschaften dieses Bacillus D waren die folgenden:

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchezucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weisse Kolonien
Lackmusmolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Sehr flinke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ.

Die Kultureigenschaften waren die folgenden:

Agar-Agar	Blaue Kolonien, bald bildet sich eine trockene runzlige Haut
3 Proz. Pferdeserumagar	Wie auf Agar, Wachstum etwas schneller
5 Proz. Glycerinagar	Wie auf Agar, Wachstum etwas schneller
Gelatine	Weisse Kolonien
Pferdebouillon	Ueppiges Wachstum, erst gleichmäßig trübe, dann Flüssigkeit hell, oben Häute.
Rinderbouillon	Weniger schnelles Wachstum als in Pferdebouillon.

Morphologie: Die Stäbchen fallen bei der Beobachtung im hängenden Tropfen direkt durch ihre außergewöhnlich große Eigenbewegung auf.

Die Größe kann wechseln, häufig sieht man sie Reihen bilden und sich gleich Schlangen durch das Gesichtsfeld schlängeln.

Kapselfärbung: Es war keine Kapsel nachweisbar.

Pathogenität: Dieser Bacillus erwies sich pathogen für Mäuse. Die Pathogenität gegenüber Kaninchen und Caviae ist wechselnd. Mäuse starben nach intraperitonealer Impfung von 0,1 ccm 24 Stunden alter Bouillonkultur innerhalb 24 Stunden. Bei subkutaner Injektion ließ der Tod länger auf sich warten.

Bei Caviae trat der Tod viel später ein. Die intraperitoneal geimpften Tiere zeigten bei der Sektion Erscheinungen septikämischer Art, wobei besonders die degenerierte Leber auffiel, während die Bauchhöhle mit Eiter angefüllt war.

Die subkutan geimpften Tiere wiesen neben septikämischen Erscheinungen auch einen Abszeß an der Impfstelle auf.

In den Kadavern waren die Bacillen ausnahmslos nachweisbar.

Bei Infektion per os wurden die Mäuse zwar krank, starben aber nicht, stets war ein mehr oder weniger großer Gewichtsverlust zu konstatieren, was aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Maus V.

Datum	Gewicht in Milligramm
6. Dez. 1911	12 200
7. " 1911	11 641
8. " 1911	11 500
9. " 1911	11 154
10. " 1911	11 004
11. " 1911	11 290
12. " 1911	11 480
13. " 1911	11 750
14. " 1911	11 860
15. " 1911	11 900

Maus VIII.

13. Dez. 1911	24 200
14. " 1911	24 150
15. " 1911	23 850
16. " 1911	23 700
17. " 1911	24 200
18. " 1911	24 390

Tenazität: Diffusem Tageslicht ausgesetzt, starben die Kulturen innerhalb 6 Wochen ab.

Da das verarbeitete Material durch direktes Impfen aus den Organen auf Agar-Agar erlangt war, während Ostertag darauf hingewiesen hat,

daß der durch ihn gefundene kurze *Streptococcus* auf Agar nicht und auf Pferdeserumagar nur mühsam wächst, erachtete ich es von höchster Bedeutung, diesen letzteren Nährboden auch zu gebrauchen. Für die Folge impfte ich daher außer auf Agar-Agar und Glycerinagar auch auf Pferdeserumagar, um zu verhindern, daß ein Nichtfinden des Ostertagschen *Streptococcus* auf Rechnung eines nicht geeigneten Nährbodens gesetzt werden könnte.

Am 3. November hatte ich Gelegenheit zur Untersuchung einer Stute, die in der vorhergehenden Nacht verworfen hatte. Nur ein nicht-stinkender, gelb-brauner Scheidenausfluß konnte beobachtet werden, im übrigen war sie völlig normal.

Der Foetus, welcher die ganze Nacht in einem Jutesack im Freien gelegen hatte, war eine normal entwickelte, ungefähr 7 Monate alte Frucht.

Seine Sektion ergab: Ein äußerst geringes Maß von Ikterus (nur an den Sklerae zu konstatieren), keine abnormen Mengen Flüssigkeit wurden in den Leibeshöhlen gefunden.

Die Fruchthüllen waren dunkelrot gefärbt. Die Lymphbahnen waren rosenkranzartig und die Lymphfollikel körnig geschwollen.

Geimpft wurde aus Milz, Leber, Herzmuskel, Herzblut, Perikard, Blutgefäßen, Gehirn und Augapfel, Fruchthüllen und Scheidenausfluß.

Untenstehenden Eigenschaften zufolge war in den meisten Gläschen *Bacillus D* in Reinkultur, in einigen verunreinigt mit *Staphylokokken* anwesend.

Foetus VI.

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weißer Kolonien auf farblosem Boden
Lackmusmolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Foetus VII:

Am 4. Nov. erhielt ich einen Teil der Fruchthüllen eines verworfenen Fohlens.

Makroskopisch fielen die dunkelrote Farbe und die strähnenartige Schwellung der Lymphbahnen und der Lymphfollikel auf. Verwesung war bereits eingetreten.

Es wurden auf den verschiedenen Medien (Agar-Agar, Pferdeserumagar, Glycerin) Kulturen angelegt aus Blutgefäßen, Lymphgefäßen und der Oberfläche.

Gefunden wurden:

Staphylococcus aureus et albus, *Bacillus coli commune*.

Foetus VIII:

Kulturen hiervon angelegt aus Bauchhöhle, Leber, Milz und Herz blieben alle steril.

Foetus IX:

Kulturen aus Herz, Leber, Milz, Gehirn und Bauchflüssigkeit lieferten in Reinkultur einen *Bacillus* mit untenstehenden Eigenschaften:

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchezucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weißer Kolonien auf farblosem Boden
Lackmusmolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Er war pathogen für Mäuse, während die Pathogenität für Caviae und Kaninchen wechselte.

Wir hatten es also wiederum mit dem Bacillus D zu tun.

Foetus X:

Hiervon wurden Kulturen angelegt aus Herz, Herzhalt, Milz, Leber, Bauchflüssigkeit, Nabelgefäßen, Blutgefäß-Fruchthülle und Fruchtwasser.

Das Resultat war:

Staphylococcus albus, Bacillus D in Verbindung mit untenstehenden Eigenschaften:

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchezucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weißer Kolonien auf farblosem Boden
Lackmusmolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Pathogenität: Pathogen für Mäuse, Caviae und Kaninchen.

Foetus XI.

Das Material angelegt aus Herz, Leber, Milz, Blut und Mageninhalt blieb steril.

Foetus XII.

Kulturen wurden angelegt aus Herz und Herzhalt, Milz, Leber und Mageninhalt.

Auf den Platten konnten definiert werden:

Schimmel, Staphylokokken, Bacillus D, wie aus den Eigenschaften hervorgeht:

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchezucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Lackmusmolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Endo-Agar	Weißer Kolonien auf farblosem Boden
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Pathogenität: Dieser Stamm war pathogen für Mäuse; die Pathogenität für Kaninchen und Caviae war wechselnd.

Foetus XIII.

Geimpft wurde aus Herz, Leber, Milz und Nabelgefäßen. Neben einzelnen Staphylokokken wuchs ein Bacillus, der untenstehenden Eigenschaften zufolge derselbe war als Bacillus D.

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weiß Kolonien auf farblosem Boden
Lackmuskolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Pathogenität: Dieser Stamm war pathogen für Mäuse; die Pathogenität für Kaninchen und Caviae war wechselnd.

Foetus XIV.

Die hieraus angelegten Kulturen blieben alle steril.

Foetus XV.

Hiervon wurden Kulturen angelegt aus Milz, Leber, Herz, Lungen, Gehirn und Mageninhalt.

Eine Reinkultur Bacillen mit den folgenden Eigenschaften:

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weiß Kolonien auf farblosem Boden
Lackmuskolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Es war also wiederum ein Bacillus D.

Foetus XVI.

Hierbei erhielt ich einen Satz Fruchthüllen, welche ebenfalls, wie bereits früher bemerkt, die rote Farbe und die strähnenartig geschwollenen Lymphbahnen aufwiesen.

Die hieraus und aus den verschiedenen Organen des Foetus angelegten Kulturen lieferten als Resultat einen Bacillus, der untenstehenden Eigenschaften zufolge mit dem Bacillus D identisch sein muß.

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchzucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weiß Kolonien auf farblosem Boden
Lackmuskolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Pathogenität: Der Bacillus ist pathogen für Mäuse und wechselnd für Caviae und Kaninchen.

Foetus XVII.

Der Foetus ist ungefähr 8 Monate alt.

Kulturen wurden angelegt aus Herz, Lungen, Leber, Milz, Nieren, Bauchhöhlenflüssigkeit, Därmen, Blase und Nabelgefäßen.

Es wurde ein Bacillus in Reinkultur gefunden, der, wie aus untenstehenden Eigenschaften hervorgeht, mit dem Bacillus D übereinstimmt.

1 Proz. Traubenzucker	Vergoren
1 Proz. Milchezucker	Nicht vergoren
1 Proz. Rohrzucker	Nicht vergoren
Milch	Nicht geronnen, auf die Dauer durchscheinend
Endo-Agar	Weißes Kolonien auf farblosem Boden
Lackmuskolke	Erst Rot-, dann Blaufärbung
Conradi-Drigalski	Blaue Kolonien auf blauem Boden
Eijkman-Bouillier	Keine Gasentwicklung, keine Verfärbung
Gelatine	Nicht verflüssigt
Beweglichkeit?	Starke Eigenbewegung
Sporenbildung	Keine Sporenbildung
Indolbildung	Keine Indolbildung
Gram-Färbung	Negativ

Pathogenität: Der Bacillus ist pathogen für Mäuse, während eine wechselnde Pathogenität besteht für Caviae und Kaninchen.

Foetus XVIII.

Die aus allen Organen angelegten Kulturen blieben steril, ausgenommen einige aus Bauchflüssigkeit, Mageninhalt und Herzblut; hieraus sind jedoch nur Staphylokokken gewachsen, so daß angenommen werden darf, daß hier kein Fall von seuchenhaftem Verwerfen vorlag.

Resultat:

Untersucht wurde das von 18 Föten erhaltene Material; hiervon blieben 4 steril. In den übrig gebliebenen 14 wurde 9mal der Bacillus D, 2mal der Bacillus A und nur 1mal Bacillus B gefunden, ferner 1mal ein grampositiver Streptococcus.

Den bereits erwähnten Eigenschaften zufolge muß der Bacillus D in die Gruppe der Hog-Cholerabacillen untergebracht werden.

B. Untersuchung vermitteltst der Komplementbindungs-methode.

Zur Feststellung, welche der bis jetzt gefundenen Bakterien als die spezifische Ursache des seuchenhaften Abortus angesehen werden müßten, nahm ich die Komplementbindung zu Hilfe.

Ich folgte bei den folgenden Versuchen der am Reichsseruminstitut zu Rotterdam zur Kontrolle und Differenzierung der dort bereiteten Sera angewandten Methode.

Als Komplement wurde normales Cavia-Serum verwandt, welches für jede Bestimmung neu gewonnen wurde, da die Aktivität des Komplements schnell zurückgeht, um schließlich völlig zu verschwinden. Vor jedem Versuch wurde der Titer des Komplements bezüglich einer bestimmten Menge roter Schafblutkörperchen und hämolytischem Serum für Schafblut bestimmt. Das Arbeiten mit einer bestimmten Menge Komplement, z. B. 0,1 ccm, wie einige Forscher angeben, ist nicht genau, da dann geringe Komplementbindungen dem Auge entgehen.

Die benötigten roten Schafblutkörperchen werden dadurch gewonnen, daß defibriniertes Schafblut 3mal zentrifugiert und jedesmal die präzipitierten Blutkörperchen mit 0,9-proz. Kochsalzlösung gewaschen,

und dabei die Flüssigkeitsmenge nach Zentrifugieren und Waschen auf demselben Volumen gehalten wurde. Von dieser Suspension wurden 5 ccm in 95 ccm sterile physiologische Kochsalzlösung gebracht, so daß ich nicht mit einer 5-proz. Suspension von roten Blutkörperchen (wie Wassermann und Bruck ursprünglich angaben), sondern mit 5-proz. Suspension von Schafblut arbeitete. Durch die Anwendung einer mehr verdünnten Blutsuspension werden die Reaktionen schärfer und verschwindet gleichzeitig der lange Uebergang zwischen Hämolyse und Hemmung. Da eine derartige Blutsolution nach einigen Tagen hämolytisch wird, mußte für jedes Experiment eine neue Suspension bereitet werden.

Das hämolytische Serum wurde von Kaninchen gewonnen, die durch eine intravenöse Injektion von 40 ccm defibriniertem und 3mal gewaschenem Schafblut präpariert waren.

14 Tage nach der Injektion wurde das Blut gesammelt, das Serum durch einen Maassenschen Filter filtriert und nachher während $1\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° C erhitzt.

Der Titer eines derartigen Serums wurde auf die folgende Weise bestimmt: In kleinen Reagenzgläsern, jedes 1 ccm der oben beschriebenen Schafblutsuspension, versetzt mit einer mehr als genügenden Menge Komplement (0.2 ccm) enthaltend, wurden absteigende Mengen inaktivierten, spezifisch hämolytischen Serums zugefügt. Diese Gläsern wurden darauf $1\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 37° C in den Brutofen gesetzt, worauf das vorläufige Resultat abgelesen wurde. Das definitive Resultat wurde am folgenden Tage, nachdem die Gläsern während der Nacht im Eisschrank gestanden hatten, abgelesen.

Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht einer derartigen Titration.

No.	Komplement	Suspension von 5 Proz. Schafblut	Inaktives hämolytisches Serum	Physiologische Kochsalzlösung	Resultat
1	0,2 ccm	1 ccm	0,1 ccm	Beifüllen bis auf gleiche Volumina	Hämolyse
2	"	"	0,05 "		"
3	"	"	0,04 "		"
4	"	"	0,03 "		"
5	"	"	0,02 "		"
6	"	"	0,01 "		"
7	"	"	0,005 "		"
8	"	"	0,004 "		"
9	"	"	0,003 "		"
10	"	"	0,002 "		"
11	"	"	0,001 "		"
12	"	"	0,0005 "		"
13	"	"	0,0004 "		Beinahe völlige Hämolyse
14	"	"	0,0003 "		Teilweise Hämolyse
15	"	"	0,0002 "		Geringe Hämolyse
16	"	"	0,0001 "		Spur von Hämolyse
17	"	"	0,00005 "		Hemmung
18	"	"	0,00004 "		"
19	"	"	0,00003 "		"
20	"	"	0,00002 "		"
21	"	"	0,00001 "		"
22	"	"	0,000005 "		"
23	"	"	0,000001 "		"
24	"	"	— "		"
25	—	"	0,1 "		"

Kontrollen: Gläsern No. 24 diente zur Untersuchung, ob die Kombination auch ohne Zufügung von Serum hämolytisch wirke.

Gläschen No. 25 diente zur Untersuchung, ob das hämolytische Serum auch genügend inaktiviert war.

Resultat: Bei einer Menge von 0,0005 ccm inaktiviertem, hämolytischem Serum trat noch vollkommene Hämolyse auf. Bei den folgenden Versuchen wurde sicherheits- halber mit einer doppelten Menge, d. i. 0,001 ccm gearbeitet.

Was den Bakterienextrakt betrifft, so wurde dieser auf folgender Weise bereitet:

Von jedem Stamm wurden 9 Agar-Agarkulturen angelegt und diese während 3 Tagen bei 37° C hingestellt. Darauf wurde in jedes Kultur- gläschen 5 ccm sterile physiologische Kochsalzlösung gegossen, und die Kultur mit einer Platinnadel hineingebracht. Der Inhalt der verschiedenen Gläschen wurde in ein Fläschchen gegossen und dieses während 1 Stunde auf 60° erwärmt, darauf 5 Tage lang bei 37° in den Brutofen gesetzt und dann 6 Stunden lang in einem Schüttelapparat geschüttelt, worauf zentrifugiert wurde.

Ballner und Reibmayer gaben an, die so erhaltene helle Flüssigkeit als Extrakt zu benutzen. Um jedoch die Aktivität des Extraktes zu erhöhen, wurden die Bakterien gesammelt und 1/2 Stunde lang mit Quarzsand in einem Mörser unter beständiger Zufügung der bereits erhaltenen hellen Flüssigkeit gerieben. Darauf aufs neue zentri- fugiert und die vollkommen helle Flüssigkeit für die Versuche gebraucht. Der nicht direkt benutzte Teil des Extrakts, der also für eine folgende Reaktion gebraucht werden konnte, wurde dadurch konserviert, daß man auf 9 Teile Extrakt 1 Teil der folgenden Flüssigkeit mengte (1 Teil Karbolsäure, 10 Teile Glyzerin, 85 Teile physiologischer Kochsalzlösung).

Am 11. Jan. 1912 kam ich in den Besitz von Serum einer Stute, die kurz vorher verworfen hatte. Ob dies infolge seuchenhaften Abortus geschah, war nicht bekannt.

Das empfangene Blut wurde zentrifugiert und das Serum filtriert durch einen kleinen Maassenschen Filter, darauf inaktiviert durch halbstündige Erwärmung bei 60° C und in zugeschmolzenen Gläschen aufbewahrt.

Vor Beginn des Versuchs mußte zuerst die Stärke des Komplements (frisches Caviablut) bestimmt werden; die untenstehende Tabelle gibt eine Uebersicht der Reaktionen:

No.	Komplement	5-proz. Sus- pension von Schafblut	Hämolytisches Serum	Physiologisches NaCl-Sol.	Resultat
1	0,1 ccm	1 ccm	0,001 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	Hämolyse
2	0,05 "	"	"		Teilweise Hämolyse
3	0,04 "	"	"		Hemmung
4	0,03 "	"	"		"
5	0,02 "	"	"		"
6	0,01 "	"	"		"
7	0,005 "	"	"		"
8	0,05 "	—	"		"
9	—	1 ccm	"		"

Kontrolle: Gläschen No. 8 mußte zur Kontrolle der Tatsache dienen, ob viel- leicht die Kombination Komplement-Suspension von Schafblut (also ohne hämolytisches Serum) bereits Hämolyse ergab.

Gläschen No. 9 zur Kontrolle, ob das hämolytische Serum selbst noch Komplement enthielt.

Resultat: Aus dem Versuch geht also hervor, daß mit 0,1 ccm Komplement Hämolyse auftritt, um jedoch Sicherheit zu haben, wird bei der Hauptreaktion 0,15 ccm gebraucht.

Bei Empfang des Serums von Stute I war ich im Besitz von Rein-
kulturen dreier verschiedener Bakterien, resp. genannt: *Bacillus A*,
Bacillus B, *Bacillus C* (ein sich nach Gram färbender *Strepto-*
coccus).

Nacheinander wurden nun die folgenden Versuche angestellt:

Bacillus A.

No.	Kom- plement	Extrakt Bac. A	Serum von Stute I	Physio- logische NaCl-Sol.	Suspen- sion von 5-proz. Schafblut	Hämo- lytisches Serum	Resultat
1	0,15 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
2	"	0,4 "	"		"	"	"
3	"	0,3 "	"		"	"	"
4	"	0,2 "	"		"	"	Hämolyse
5	"	0,1 "	"		"	"	"
6	"	0,05 "	"		"	"	"
7	"	0,5 "	0,05 ccm		"	"	Teilweise Hemmung
8	"	0,4 "	"		"	"	Hämolyse
9	"	0,3 "	"		"	"	"
10	"	0,2 "	"		"	"	"
11	"	0,1 "	"		"	"	"
12	"	0,05 "	"		"	"	"

Die folgenden Reaktionen mußten zur Kontrolle dienen.

No.	Kom- plement	Extrakt Bac. A	Serum von Stute I	Physio- logische NaCl-Sol.	Suspen- sion von 5-proz. Schafblut	Hämo- lytisches Serum	Resultat
13	—	0,1 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
14	—	"	—		"	"	"
15	0,1 ccm	—	—		"	"	Hämolyse
16	—	—	0,1 ccm		"	"	Hemmung
17	—	—	0,05 "		"	"	"
18	—	—	—		"	"	"
19	0,1 ccm	0,5 ccm	—		"	"	Teilweise Hemmung
20	"	0,4 "	—		"	"	dgl.
21	"	0,3 "	—		"	"	Hämolyse
22	"	0,2 "	—		"	"	"
23	"	0,1 "	—		"	"	"
24	"	0,05 "	—		"	"	"
25	"	—	0,1 ccm		"	"	"
26	"	—	0,05 "		"	"	"
27	"	—	Norm.-Serum		"	"	"
28	"	0,5 ccm	0,1 ccm		"	"	Teilweise Hämolyse
29	"	0,4 "	"		"	"	dgl.
30	"	0,3 "	"		"	"	Hämolyse
31	"	0,2 "	"		"	"	"
32	"	0,1 "	"		"	"	"
33	"	0,05 "	"		"	"	"

Zur Erklärung diene das Folgende:

Die angegebenen Mengen Komplement, Bakterienextrakt, Serum von
Stute I und die physiologische Kochsalzlösung wurden zusammengetan
und nach guter Vermischung während 1 Stunde bei 37° C in den Brut-
ofen gestellt.

Nach Verlauf dieser Zeit wurden die 5-proz. Schafblutsuspension
und das hämolytische Serum zugefügt und nach anderthalbstündigem
Aufenthalt im Brutofen bei 37° C das vorläufige Resultat abgelesen, um
nach einer Nacht im Eisschrank das definitive Resultat zu notieren.

Wie aus obenstehender Tabelle erhellt, waren die folgenden Kontrollen eingerichtet:

Gläschen 13 und 14 zur Feststellung, ob auch ohne Zufügung von Komplement bereits Hämolyse eintrat.

Gläschen 15 zur Kontrolle, ob die Menge Komplement zur Erweckung von Hämolyse genügte.

Gläschen 16 und 17 zur Untersuchung, ob das Serum von Stute I noch Komplement enthielt.

Gläschen 18 zum Nachweis, ob vielleicht die Suspension von Schafblutkörperchen durch das hämolytische Serum allein bereits hämolytisch werde.

Gläschen 19–25 zur Anweisung, welche Menge Extrakt allein noch hemmend wirkt.

Gläschen 25 und 26 zur Kontrolle, ob die gebrauchten Mengen Serum allein vielleicht hemmend wirken.

Gläschen 27–33 zur Kontrolle von normalem Serum mit demselben Extrakt zum Vergleich mit den erhaltenen Resultaten vom Serum von Stute I.

Schlußfolgerung: Der Versuch wurde ohne störende Einflüsse verrichtet, durch keine der angestellten Kontrollen wurde nachgewiesen, daß eins der gebrauchten Materialien für seinen Zweck unbrauchbar genannt werden mußte.

Die völlige Hemmung in Gläschen 1, 2 und 3 in Verbindung mit der teilweisen Hämolyse in den Kontrollgläschen 27 und 28 und der verhältnismäßig geringen Hemmung in Gläschen 19 und 20 berücksichtigend, würde man schließen müssen, daß eine Beziehung besteht zwischen *Bacillus A* und dem seuchenhaften Abortus, vorausgesetzt, daß Stute I infolge infektiösen Abortes verworfen hat.

Gleichzeitig wurden die Reaktionen bezüglich *Bacillus B* angestellt.

Untenstehend folgt das dabei erhaltene Resultat:

Bacillus B.

No.	Komplement	Extrakt Bac. B	Serum von Stute I	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolytisches Serum	Resultat
1	0,15 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
2	"	0,4 "	"		"	"	Teilweise Hemmung
3	"	0,3 "	"		"	"	Hämolyse
4	"	0,2 "	"		"	"	"
5	"	0,1 "	"		"	"	"
6	"	0,05 "	"		"	"	"
7	"	0,5 "	0,05 ccm		"	"	Hemmung
8	"	0,4 "	"		"	"	Teilweise Hemmung
9	"	0,3 "	"		"	"	Hämolyse
10	"	0,2 "	"		"	"	"
11	"	0,1 "	"		"	"	"
12	"	0,05 "	"		"	"	"

Die angestellten Kontrollen stimmten mit den bei *Bacillus A* angegebenen überein, der Vollständigkeit halber folgen sie in der nächsten Tabelle.

Die Technik der Reaktion war dieselbe wie vorher. Die Kontrollgläschen sind dieselben wie die bei dem Versuch mit *Bacillus A* gebrauchten korrespondierenden Nummern.

Schlußfolgerung: Der Versuch ist ohne störende Einflüsse beendet.

In Verbindung mit der völligen Hemmung in Gläschen 1 und 7 und der teilweisen Hemmung in 2 und 8, berücksichtigend die völlige Hem-

No.	Komplement	Extrakt von Bac. B	Serum von Stute I	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolysches Serum	Resultat
13	—	0,1 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
14	—	"	—		"	"	"
15	0,15 ccm	"	—		"	"	Hämolyse
16	—	—	0,1 ccm		"	"	Hemmung
17	—	—	0,05 "		"	"	"
18	—	—	—		"	"	"
19	0,15 ccm	0,5 ccm	—		"	"	"
20	"	0,4 "	—		"	"	teilweise Hemmung
21	"	0,3 "	—		"	"	Hämolyse
22	"	0,2 "	—		"	"	"
23	"	0,1 "	—		"	"	"
24	"	0,05 "	—		"	"	"
25	"	—	0,1 ccm		"	"	"
26	"	—	0,05 "		"	"	"
			Norm.-Ser.				
27	"	0,5 ccm	0,1 ccm		"	"	Hemmung
28	"	0,4 "	"		"	"	teilweise Hemmung
29	"	0,3 "	"		"	"	Hämolyse
30	"	0,2 "	"		"	"	"
31	"	0,1 "	"		"	"	"
32	"	0,05 "	"		"	"	"
33	"	—	"		"	"	"

mung in Kontrollgläschen 17 und 19 und die teilweise Hemmung in 20 und 28 kann man schließen, daß Bacillus B mit dem seuchenhaften Abortus in keiner Verbindung steht, vorausgesetzt, daß Stute I an dieser Krankheit leidend gewesen ist.

Mit Bacillus C (dem Streptococcus) wurden dieselben Reaktionen verrichtet:

Bacillus C.

No.	Komplement	Extrakt von Bac. C	Serum von Stute I	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolysches Serum	Resultat
1	0,15 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	teilweise Hemmung
2	"	0,4 "	"		"	"	Hämolyse
3	"	0,3 "	"		"	"	"
4	"	0,2 "	"		"	"	"
5	"	0,1 "	"		"	"	"
6	"	0,05 "	"		"	"	"
7	"	0,5 "	0,05 ccm		"	"	teilweise Hemmung
8	"	0,4 "	"		"	"	Hämolyse
9	"	0,3 "	"		"	"	"
10	"	0,2 "	"		"	"	"
11	"	0,1 "	"		"	"	"
12	"	0,05 "	"		"	"	"

Die Kontrollen waren wiederum dieselben als die vorhergehenden (s. folgende Tabelle).

Kontrollen: Die Kontrollgläschen stimmen mit den korrespondierenden Nummern der vorigen Versuche überein.

Schlußfolgerung: Die Reaktion und die Kontrollen verliefen normal.

No.	Komplement	Extrakt von Bac. C	Serum von Stute I	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schaffblut	Hämolysches Serum	Resultat
13	—	0,1 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
14	—	"	—		"	"	"
15	0,15 ccm	—	—		"	"	Hämolyse
16	—	—	0,1 ccm		"	"	Hemmung
17	—	—	0,05 "		"	"	"
18	—	—	—		"	"	"
19	0,15 ccm	0,5 ccm	—		"	"	teilweise Hemmung
20	"	0,4 "	—		"	"	Hämolyse
21	"	0,3 "	—		"	"	"
22	"	0,2 "	—		"	"	"
23	"	0,1 "	—		"	"	"
24	"	0,05 "	—		"	"	"
25	"	—	0,1 ccm		"	"	"
26	"	—	0,05 "		"	"	"
			Norm.-Ser.				
27	"	0,5 ccm	0,1 ccm		"	"	teilweise Hemmung
28	"	0,4 "	"		"	"	Hämolyse
29	"	0,3 "	"		"	"	"
30	"	0,2 "	"		"	"	"
31	"	0,1 "	"		"	"	"
32	"	0,05 "	"		"	"	"
33	"	—	"		"	"	"

Die teilweise Hemmung in Gläschen 1 berücksichtigend, welche mit der teilweisen Hemmung in Gläschen 19 und 27 übereinstimmt, darf man schließen, daß *Bacillus C* mit dem seuchenhaften *Abortus* nichts zu tun hat.

Von *Bacillus D* wurden gleichfalls auf die beschriebene Weise Extrakte gemacht, womit die Reaktion auf dieselbe Weise ausgeführt wurde. Da jedoch das Serum von einer anderen Stute stammte, wurde auch mit *Bacillus A*, der beim vorigen Versuch ein schwach positives Resultat ergeben hatte, eine Serie Versuche gemacht.

Der Versuch zur Bestimmung der nötigen Komplementmenge war folgendermaßen:

No.	Komplement	Suspension von 5-proz. Schaffblut	Hämolysches Serum	Physiologische NaCl-Sol.	Resultat
1	0,1 ccm	1 ccm	0,001 ccm	1 ccm	Hämolyse
2	0,05 "	"	"	"	"
3	0,04 "	"	"	"	"
4	0,03 "	"	"	"	Teilweise Hämolyse
5	0,02 "	"	"	"	Teilweise Hemmung
6	0,01 "	"	"	"	Hemmung

Als Komplementdosis wird bei den folgenden Versuchen 0,05 ccm gebraucht (s. nächste Tabelle).

Kontrollen: In obenstehender Tabelle sind also sowohl die Reaktion selbst als auch die nötigen Kontrollen aufgenommen.

Gläschen 8 und 9 dienen zur Untersuchung, ob das Serum von Stute II allein bereits Komplementbindung gibt.

Gläschen 10 gibt an, ob die genommene Komplementmenge zur Erweckung von Hämolyse genügt.

No.	Komplement	Extrakt von Bac. D	Serum von Stute II	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolytisches Serum	Resultat
1	0,05 ccm	0,3 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
2	"	0,2 "	"		"	"	"
3	"	0,1 "	"		"	"	Teilweise Hemmung
4	"	0,05 "	"		"	"	Hämolyse
5	"	0,04 "	"		"	"	"
6	"	0,03 "	"		"	"	"
7	"	0,02 "	"		"	"	"
8	"	—	0,2 ccm		"	"	"
9	"	—	0,1 "		"	"	"
10	"	—	—		"	"	"
11	—	—	—		"	"	Hemmung
12	—	0,3 ccm	0,1 ccm		"	"	"
13	—	0,3 "	—		"	"	"
14	—	—	0,2 ccm		"	"	"
15	0,05 ccm	0,3 ccm	—		"	"	"
16	"	0,2 "	—		"	"	"
17	"	0,1 "	—		"	"	Teilweise Hämolyse
18	"	0,05 "	—		"	"	Hämolyse
19	"	0,04 "	—		"	"	"
20	"	0,03 "	—		"	"	"
21	"	0,02 "	—		"	"	"
22	"	0,1 "	Norm.-Serum 0,1 ccm		"	"	Teilweise Hämolyse
23	"	0,05 "	"		"	"	Hämolyse
24	"	0,04 "	"		"	"	"
25	"	0,03 "	"		"	"	"
26	"	0,02 "	"		"	"	"

Gläschen 11 beweist, daß das System: Schafblut + hämolytisches Serum + physiologischer Kochsalzlösung ohne Komplement keine Hämolyse erweckt.

Gläschen 12 ist angelegt zur Untersuchung, ob der Extrakt des Bacillus D + dem Serum von Stute II ohne Komplement Hämolyse erweckt.

Gläschen 14 kontrolliert, ob das Serum von Stute II genügend inaktiviert ist.

Gläschen 15–22 geben an, inwieweit der Extrakt allein hemmend wirkt.

Gläschen 22–27 das Resultat dieser Serie Gläschen soll dienen zum Vergleich mit jenem von Gläschen 1–8.

Schlußfolgerung: Der Versuch ist den angelegten Kontrollgläschen zufolge ohne störende Einflüsse verlaufen.

Das Serum von Stute II enthält, wie sich beim Vergleich der Gläschen 4–7 und 23–26 ergibt, keine komplementbindenden Stoffe mit Bezug auf Bacillus D.

Mit Extrakt des Bacillus A wurde eine analoge Serie Gläschen angelegt, und zwar, wie folgt (s. nächste Tabelle).

Schlußfolgerung: Der Versuch ist ohne störende Elemente ausgeführt.

Der Bacillus A findet im Serum von Stute II keine passenden komplementbindenden Stoffe.

Wiederum in den Besitz von Serum eines Pferdes gekommen, das infektiös verworfen haben sollte, beschloß ich, aufs neue einen Versuch mit den Extrakten aller 4 gefundenen Bacillen und betreffs Bacillus D von 5 verschiedenen Stämmen zu machen.

Da neues hämolytisches Serum gebraucht werden mußte, mußte aufs neue titriert werden.

No.	Komplement	Extrakt von Bac. A	Serum von Stute II	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolysches Serum	Resultat
1	0,05 ccm	0,3 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,001 ccm	Hemmung
2	"	0,2 "	"		"	"	"
3	"	0,1 "	"		"	"	Hämolyse
4	"	0,05 "	"		"	"	"
5	"	0,04 "	"		"	"	"
6	"	0,03 "	"		"	"	"
7	"	0,02 "	"		"	"	"
8	"	—	0,2 ccm		"	"	"
9	"	—	0,1 "		"	"	"
10	"	—	—		"	"	"
11	—	—	—		"	"	Hemmung
12	—	0,3 ccm	0,1 ccm		"	"	"
13	—	0,3 "	—		"	"	"
14	—	—	0,2 ccm		"	"	"
15	0,05 ccm	0,3 ccm	—		"	"	"
16	"	0,2 "	—		"	"	"
17	"	0,1 "	—		"	"	Hämolyse
18	"	0,05 "	—		"	"	"
19	"	0,04 "	—		"	"	"
20	"	0,03 "	—		"	"	"
21	"	0,02 "	—		"	"	"
22	"	0,1 "	Norm.-Serum 0,1 ccm		"	"	"
23	"	0,05 "	"		"	"	"
24	"	0,04 "	"		"	"	"
25	"	0,03 "	"		"	"	"
26	"	0,02 "	"		"	"	"

Die Titration lieferte das Folgende:

No.	Komplement	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolysches Serum	Physiologische NaCl-Sol.	Resultat
1	0,2 ccm	1 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	Hämolyse
2	"	"	0,05 "		"
3	"	"	0,03 "		"
4	"	"	0,02 "		"
5	"	"	0,01 "		"
6	"	"	0,005 "		"
7	"	"	0,003 "		Spur von Hämolyse
8	"	"	0,002 "		"
9	"	"	0,001 "		Hemmung
10	"	"	0,0005 "		"
11	"	"	0,0003 "		"
12	"	"	0,0002 "		"
13	"	"	0,0001 "		"
14	"	"	0,00005 "		"
15	"	"	0,00004 "		"
16	"	"	0,00003 "		"
17	"	"	0,00002 "		"
18	"	"	0,00001 "		"

Eine Menge von 0,005 ccm hämolyschen Serums gibt also in dieser Kombination noch völlige Hämolyse, zur absoluten Sicherheit der guten Wirkung wurde jedoch beim folgenden Versuch eine doppelte Menge, d. i. 0,01 ccm, gebraucht.

Die vier Extrakte sind des guten Vergleichs wegen in einer Serie Gläschen untergebracht.

No.	Kom- plement	Extrakt der Bacillen	Serum von Stute III	Physio- logische NaCl-Sol.	Suspen- sion von 5-proz. Schafblut	Hämo- lytisches Serum	Resultat
1	0,05 ccm	A 0,3 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,01 ccm	Hemmung
2	"	" 0,2 "	"		"	"	"
3	"	" 0,1 "	"		"	"	"
4	"	" 0,05 "	"		"	"	"
5	"	" 0,04 "	"		"	"	"
6	"	" 0,03 "	"		"	"	"
7	"	" 0,02 "	"		"	"	"
8	"	B 0,3 "	"		"	"	"
9	"	" 0,2 "	"		"	"	"
10	"	" 0,1 "	"		"	"	"
11	"	" 0,05 "	"		"	"	"
12	"	" 0,04 "	"		"	"	"
13	"	" 0,03 "	"		"	"	"
14	"	" 0,02 "	"		"	"	"
15	"	C 0,3 "	"		"	"	"
16	"	" 0,2 "	"		"	"	"
17	"	" 0,1 "	"		"	"	"
18	"	" 0,05 "	"		"	"	"
19	"	" 0,04 "	"		"	"	"
20	"	" 0,03 "	"		"	"	"
21	"	" 0,02 "	"		"	"	"
22	"	D 0,3 "	"		"	"	"
23	"	" 0,2 "	"		"	"	"
24	"	" 0,1 "	"		"	"	"
25	"	" 0,05 "	"		"	"	"
26	"	" 0,04 "	"		"	"	"
27	"	" 0,03 "	"		"	"	"
28	"	" 0,02 "	"		"	"	"
29	"	—	—		"	"	Hämolysen
30	—	—	—		"	"	Hemmung
			Norm.-Serum				
31	0,05 ccm	A 0,3 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	"	"	"
32	"	" 0,2 "	"		"	"	"
33	"	" 0,1 "	"		"	"	"
34	"	" 0,05 "	"		"	"	"
35	"	" 0,04 "	"		"	"	"
36	"	" 0,03 "	"		"	"	"
37	"	" 0,02 "	"		"	"	"
38	"	B 0,3 "	"		"	"	"
39	"	" 0,2 "	"		"	"	"
40	"	" 0,1 "	"		"	"	"
41	"	" 0,05 "	"		"	"	"
42	"	" 0,04 "	"		"	"	"
43	"	" 0,03 "	"		"	"	"
44	"	" 0,02 "	"		"	"	"
45	"	C 0,3 "	"		"	"	"
46	"	" 0,2 "	"		"	"	"
47	"	" 0,1 "	"		"	"	"
48	"	" 0,05 "	"		"	"	"
49	"	" 0,04 "	"		"	"	"
50	"	" 0,03 "	"		"	"	"
51	"	" 0,02 "	"		"	"	"
52	"	D 0,3 "	"		"	"	"
53	"	" 0,2 "	"		"	"	"
54	"	" 0,1 "	"		"	"	"
55	"	" 0,05 "	"		"	"	"
56	"	" 0,04 "	"		"	"	"
57	"	" 0,03 "	"		"	"	"
58	"	" 0,02 "	"		"	"	"
59	"	—	Ser. v. St. III 0,1 ccm		"	"	Hämolysen 24*

No.	Komplement	Extrakt der Bacillen	Serum von Stute IV	Physiologische NaCl-Sol.	Suspension von 5-proz. Schafblut	Hämolytisches Serum	Resultat
1	0,05 ccm	Ab 0,3 ccm	0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	1 ccm	0,01 ccm	Hemmung
2	"	" 0,2 "	"		"	"	"
3	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hemmung
4	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
5	"	" 0,04 "	"		"	"	"
6	"	" 0,03 "	"		"	"	"
7	"	" 0,02 "	"		"	"	"
8	"	Ac 0,3 "	"		"	"	Hemmung
9	"	" 0,2 "	"		"	"	"
10	"	" 0,1 "	"		"	"	Spur von Hämolyse
11	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
12	"	" 0,04 "	"		"	"	"
13	"	" 0,03 "	"		"	"	"
14	"	" 0,02 "	"		"	"	"
15	"	Db 0,3 "	"		"	"	Hemmung
16	"	" 0,2 "	"		"	"	"
17	"	" 0,1 "	"		"	"	Spur von Hämolyse
18	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
19	"	" 0,04 "	"		"	"	"
20	"	" 0,03 "	"		"	"	"
21	"	" 0,02 "	"		"	"	"
22	"	Dc 0,3 "	"		"	"	Hemmung
23	"	" 0,2 "	"		"	"	"
24	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hemmung
25	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
26	"	" 0,04 "	"		"	"	"
27	"	" 0,03 "	"		"	"	"
28	"	" 0,02 "	"		"	"	"
29	"	—	—		"	"	"
30	"	Ab 0,3 "	Norm.-S. 0,1 ccm	Beifüllen auf gleiche Volumina	"	"	Hemmung
31	"	" 0,2 "	"		"	"	"
32	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hämolyse
33	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
34	"	" 0,04 "	"		"	"	"
35	"	" 0,03 "	"		"	"	"
36	"	" 0,02 "	"		"	"	"
37	"	Ac 0,3 "	"		"	"	Hemmung
38	"	" 0,2 "	"		"	"	"
39	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hemmung
40	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
41	"	" 0,04 "	"		"	"	"
42	"	" 0,03 "	"		"	"	"
43	"	" 0,02 "	"		"	"	"
44	"	Db 0,3 "	"		"	"	Hemmung
45	"	" 0,2 "	"		"	"	"
46	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hemmung
47	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
48	"	" 0,04 "	"		"	"	"
49	"	" 0,03 "	"		"	"	"
50	"	" 0,02 "	"		"	"	"
51	"	Dc 0,3 "	"		"	"	Hemmung
52	"	" 0,2 "	"		"	"	"
53	"	" 0,1 "	"		"	"	teilweise Hemmung
54	"	" 0,05 "	"		"	"	Hämolyse
55	"	" 0,04 "	"		"	"	"
56	"	" 0,03 "	"		"	"	"
57	"	" 0,02 "	"		"	"	"
58	"	—	—		"	"	"
59	"	—	Serum Stute IV 0,1 ccm		"	"	"

Kontrollen: Aus Gläschen 29 geht hervor, daß die genomme Komplementmenge genügt, um in Kombination mit 5-proz. Schafblut und inaktiviertem, hämolytischem Serum Hämolyse zu erwecken.

Gläschen 30 weist nach, daß 5-proz. Schafblut + hämolytischem Serum ohne Anwesenheit von Komplement nicht aufeinander einwirken.

Gläschen 31–59 enthalten die Kontrolle mit normalem Serum.

Gläschen 59 dient zur Untersuchung, ob das Serum von Stute III auch komplementbindende Gruppen umfaßt, alsdann würde keine Hämolyse auftreten dürfen.

Schlußfolgerung: Da alle Extrakte bereits aus sich selbst hemmend wirkten, konnte dem Versuch kein Wert beigemessen werden.

Mit Serum von Stute III habe ich darauf wiederum einen Versuch angestellt.

Die Bereitung des Extraktes wich einigermaßen von der bis jetzt durch mich befolgten Methode ab. Der Versuch geschah nebeneinander mit einer gewöhnlichen abgetöteten Bouillonkultur und der zentrifugierten Kultur.

Der Versuch geschah allein mit Extrakten von den Bacillen A und D.

b = Bouillonkultur.

c = Bouillonkultur, aus der die Bacillen durch Zentrifugieren entfernt sind.

Schlußfolgerung: Aus der Vergleichung der korrespondierenden Gläschen mit Serum von Stute IV und normalem Serum erhellt, daß das Serum genannter Stute keine speziellen Antistoffe mit Bezug auf Bacillus A oder Bacillus D enthielt.

Resultat: Nur beim ersten Versuch (Extrakt des Bacillus A mit Bezug auf Serum von Stute I) wurde ein schwach positives Resultat erhalten.

Die Tatsache berücksichtigend, daß nicht mit Sicherheit festzustellen war, ob das Serum von Stuten erlangt war, die infolge infektiöser Ursachen verworfen hatten, darf weder diesem schwach positiven Resultat mit Bacillus A, noch den negativen Resultaten mit den anderen Bacillen großer Wert beigemessen werden.

C. Agglutinationsversuche.

Um die gefundenen Bakterien besser zu differenzieren, wurden Agglutinationsversuche mit den Bacillen der Paratyphus A-, Hog-Cholera- und Enteritidis-Gruppen [Paratyphus A, B, Mäusetyphus, Enteritidis Aertryk (Leimuiden, Eindhoven) Enteritidis Gärtner] angestellt.

Die agglutinierenden Sera waren von Kaninchen erlangt, die nach unterstehendem Schema präpariert waren:

1.	Woche eine Injektion (subkutan) von	2 ccm	Bouillonkultur abgetötet bei	60° C
2.	"	"	"	"
3.	"	"	"	"
4.	"	"	"	"
5.	"	"	"	"
6.	"	"	"	"
7.	"	"	"	"
8.	"	"	"	"
9.	"	"	"	"
10.	"	"	"	"
11.	"	"	"	"

10 Tage nach der letzten Injektion wurde durch Oeffnung der Art. carotis das Blut der Kaninchen gesammelt.

Nachdem das Blut 2 Tage gestanden hatte, wurde das Serum zentrifugiert und danach durch einen Maassenschen Filter filtriert, in Gläschen gegossen, diese zugeschmolzen und darauf während 1/2 Stunde auf 56° C erhitzt.

Agglutinationsversuch des Bacillus D.

Verdünnung	Agglutinierendes Serum für					
	Para-typhus A	Para-typhus B	Enteritidis Gärtner	Enteritidis Aertryk Leimuiden	Enteritidis Aertryk Eindhoven	Mäuse-typhus
1:40	+	+	—	+	+	+
1:100	+	+	—	—	—	+
1:200	+	+	—	—	—	—
1:400	+	—	—	—	—	—
1:1000	+	—	—	—	—	—
1:2000	+	—	—	—	—	—
1:4000	+	—	—	—	—	—
1:10000	—	—	—	—	—	—
1:20000	—	—	—	—	—	—
1:40000	—	—	—	—	—	—

Schlußfolgerung: Der Bacillus D stimmt mit keinem der 6 Bacillen überein, steht jedoch zwischen den Bacillen Paratyphus A und B, und zwar überwiegend näher bei Bacillus paratyphi A.

Agglutinationsversuch des Bacillus A.

Verdünnung	Agglutinierendes Serum für			
	Para-typhus A	Para-typhus B	Enteritidis Gärtner	Enteritidis Aertryk Leimuiden
1:40	+	+	+	+
1:100	+	+	—	—
1:200	+	+	—	—
1:400	+	+	—	—
1:1000	—	+	—	—
1:2000	—	+	—	—
1:4000	—	—	—	—
1:10000	—	—	—	—
1:20000	—	—	—	—
1:40000	—	—	—	—

Schlußfolgerung: Der Bacillus A steht zwischen dem Bacillus paratyphi A und B, und zwar viel mehr bei Bacillus paratyphi B als bei Bacillus paratyphi A.

Agglutinationsversuch des Bacillus B.

Verdünnung	Agglutinierendes Serum für			
	Para-typhus A	Para-typhus B	Enteritidis Gärtner	Enteritidis Aertryk Leimuiden
1:40	—	—	—	—
1:100	—	—	—	—
1:200	—	—	—	—
1:400	—	—	—	—
1:1000	—	—	—	—
1:2000	—	—	—	—
1:4000	—	—	—	—
1:10000	—	—	—	—
1:20000	—	—	—	—
1:40000	—	—	—	—

Schlußfolgerung: Aus dem Versuch geht hervor, daß nur negative Resultate sich ergeben, der Bacillus B besitzt also keine Verwandtschaft mit den obengenannten Bakterien.

D. Untersuchung mit trächtigen Tieren.

Um die Wirkung des Bacillus D zu untersuchen, nahm ich Versuche mit trächtigen Caviae und Ziegen vor.

Als modus infectionis wurde sowohl der subkutane und intraperitoneale Weg als auch per os und per vaginam angewandt.

Cavia I.

Am 9. Jan. wurde $\frac{1}{2}$ ccm einer 18 Stunden alten Pferdebouillonkultur subkutan eingespritzt.

Am 10. Jan. hat das Cavia verworfen; die aus toten Föten angelegten Kulturen blieben steril.

Am 19. Jan. ist das Cavia gestorben; aus allen Organen, also auch aus der Gebärmutter konnte der Bacillus D gezüchtet werden.

Cavia II.

Am 9. Jan. wurde $\frac{1}{2}$ ccm einer 18 Stunden alten Pferdebouillonkultur intraperitoneal eingespritzt.

Am 18. Jan. war das Cavia gestorben.

Bei der Sektion ergab sich, daß das Cavia nicht trächtig gewesen war; aus allen Organen wurde der Bacillus gezüchtet.

Cavia III.

Am 12. Febr. wurde $\frac{1}{10}$ ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur intraperitoneal eingespritzt. Dieses Cavia blieb am Leben und schien nicht trächtig gewesen zu sein.

Cavia IV.

Am 12. Februar wurde $\frac{1}{10}$ ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur subkutan eingespritzt.

Am 13. Febr. (nach ungefähr 22 Stunden) verwarf das Cavia; aus den Föten konnte der Bacillus abgesondert werden.

Am 20. Febr. ist das Cavia gestorben; aus allen Organen wurde der Bacillus gezüchtet.

Cavia V.

Am 12. Febr. wurde dieses Cavia mit 24 Stunden alter Bouillonkultur in die Scheide gespritzt.

In der Nacht vom 25./26. Febr. hat das Cavia verworfen und ist gleichzeitig gestorben.

Aus den Föten und dem Cavia wuchs der Bacillus D in Reinkultur.

Cavia VI.

Dieses Cavia wurde täglich mit in Bouillonkultur geweichtem Brot gefüttert.

Es ist am Leben geblieben und schien nicht trächtig gewesen zu sein.

Ziege I.

Am 1. Febr. wurde bei einer Ziege, welche \pm 12 Wochen trächtig war, 0,5 g Bouillonkultur intravenös eingespritzt.

6 Stunden nach der Einspritzung war die Temperatur bereits bis $40,3^{\circ}$ gestiegen.

In der Nacht vom 2./3. Febr. warf die Ziege 2 Föten, die Temperatur war damals durchschnittlich $40,6^{\circ}$.

Aus den beiden Föten konnte, obwohl spärlich, der Bacillus gezüchtet werden.

Am 8. Febr. ist die Ziege gestorben. Aus allen Organen — auch aus Uterus und Galle — wuchs der Bacillus in Reinkultur.

Ziege II.

Diese Ziege empfing $\frac{1}{2}$ g Bouillonkultur intravenös.

Schon einige Stunden später zeigt sie sich sehr krank: Temperatur $40,6^{\circ}$. Sie blieb einige Tage krank, genas dann jedoch langsam.

Später ergab sich, daß die Ziege nicht trächtig gewesen war.

Ziege III.

Diese Ziege wurde am 6. Febr. dadurch infiziert, daß man ein Wattepföpfchen, getränkt in Bouillonkultur des Bacillus D, in die Scheide brachte. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde dieses Wattepföpfchen beim Urinieren herausgepreßt.

Am 13., 18., 22. und 27. Febr. wurde sie aufs neue infiziert.

Nach jeder Infektion stieg die Temperatur ungefähr $\frac{1}{2}^{\circ}$, um nach 24 Stunden wieder zum normalen Stand zurückzukehren.

Nach voller Tracht warf die Ziege III zwei gesunde Lämmer.

Ziege IV.

Diese Ziege, 12 Wochen trächtig, wurde per os infiziert, und zwar folgendermaßen:

13. Febr. 10 g Bouillonkultur (40 Stunden alt) per os, keine Temperaturreaktion.

17. Febr. 10 g Bouillonkultur (40 Stunden alt) per os, Reaktion von 38,2—39,1°.

Auch am folgenden Tage war die Temperatur 39,1°, darauf wieder normal.

22. Febr. 10 g Kultur per os; Morgentemperatur 38,6°, Abendtemperatur 39,1°; am folgenden Tage 39,3°, darauf wieder normal.

27. Febr. 10 g Kultur per os. Reaktion von 38,8—39,3°.

Am 5. März warf die Ziege einen toten Foetus. Aus allen Organen wurde der Bacillus D in Reinkultur gezüchtet.

Resultat: Aus obenstehenden Versuchen geht hervor, daß der Bacillus D imstande ist, bei Versuchstieren Abortus zu erwecken.

Schlußfolgerung.

Auf Grund der bakteriologischen Untersuchung verworfener Früchte und ihrer Hüllen, als auch auf Grund des Resultates der Versuche mit trächtigen Tieren kann, obwohl die Untersuchung vermittelt der Komplementbindungsmethode hierüber keine Sicherheit verschaffte, angenommen werden, daß der seuchenhafte Abortus bei Stuten durch den Bacillus D verursacht wird.

Auf Grund der Resultate der Agglutinationsversuche muß angenommen werden, daß der Bacillus D in die Gruppe der Hog-Cholerabacillen rangiert werden muß und daß er am nächsten steht dem Bacillus paratyphi A.

Maßregeln zur Bekämpfung des seuchenhaften Abortus bei Stuten.

Zur Bekämpfung des seuchenhaften Abortus bei Stuten wird neben der Anwendung der allgemeinen hygienischen Maßregeln, wie bei Ostertag empfohlen — Desinfektion der Ställe und Standplätze, Vernichtung der verworfenen Föten und Fruchthüllen, Absonderung und Irrigieren der Stuten, welche verworfen haben usw. — danach getrachtet, die Tiere aktiv und passiv zu immunisieren.

Die aktive Immunisation kommt zustande durch Impfung der Tiere mit einer abgetöteten Kultur des Abortuserregers.

Die Bereitung dieses Impfstoffes geschieht im Reichsseruminstitut zu Rotterdam folgendermaßen:

Eine 24 Stunden alte Agar-Agarkultur wird in einer halbprozentigen Lösung von Karbolsäure in physiologischer Kochsalzlösung verteilt, sodann wird diese Aufschwemmung eine Stunde lang auf 65° C erwärmt.

Die passive Immunisation findet durch Einspritzung der Stuten mit Serum statt.

Dieses Serum wird in genanntem Institut bei Pferden bereitet.

Da es sich als gefährlich erwies, Pferde direkt mit lebender Kultur intravenös einzuspritzen, wurde begonnen mit einer absteigenden Menge abgetöteter, auf die für den Impfstoff angegebene Art und Weise zubereiteten Kultur.

Darauf wurde wöchentlich eine steigende Menge lebender Bouillonkultur intravenös eingespritzt, bis zu einem Maximum von 25—30 ccm, da selbst vorsichtig vorbereitete Tiere eine größere Dosis nicht vertragen können.

Die Anwendung der Einspritzung hängt von der Periode der Trächtigkeit ab, in welcher die Stuten sich befinden. In Ställen, in denen in dem betreffenden Jahr noch kein Verwerfen vorgekommen ist, geschieht die Behandlung folgendermaßen:

1. Periode vom 1. bis zum 5. Monat inklusive	2. Periode Anfang des 5. bis zum 8. Monat inklusive	3. Periode nach Anfang des 9. Monats
5 ccm Impfstoff intravenös	10 ccm Impfstoff und 50 ccm Serum subkutan	100 ccm Serum subkutan

In Ställen, in denen bereits Verwerfen vorgekommen ist und wo also die Notimpfung bei den übrigen trächtigen Pferden geschieht, spritzt man zuerst 50 g Serum subkutan ein und 10 Tage später verrichtet man die Impfung wie für die erste oder zweite Periode auf die oben beschriebene Art und Weise.

Mit der oben für jede Periode angegebenen Impfung ist die Behandlung abgelaufen.

Pferde, die verworfen haben, kann man 14 Tage, nachdem das Tier keine Krankheitserscheinungen mehr aufweist, intravenös mit 5 ccm Impfstoff behandeln. Es ist dann jedoch erwünscht, im 4. Monate der Trächtigkeit die Behandlung zu wiederholen. Die mit Impfstoff eingespritzten Pferde dürfen während der ersten 4 Tage nicht gebraucht werden.

Bezüglich des Resultats dieser Immunisation ist, in Verbindung mit ihrer erst jungen Anwendung, nichts mit Sicherheit zu melden.

Literatur.

- 1) Demoussy, Mémoires sur les cheveaux espagnols. 1811.
- 2) Fischer, Journ. vétérin. et agric. de Belgique. 1845. p. 55.
- 3) Sempastour, Recueil de méd. vétérin. 1850. p. 204.
- 4) Bouley, H., Dictionnaire pratique de méd., de chir. et d'hyg. vétérin. T. 2. p. 314; Recueil de méd. vétérin. T. 2. p. 714.
- 5) Gsell, Bull. de la soc. centr. de méd. vétérin. 1887. p. 163.
- 6) Saint-Cyr, Traité d'obstétrique. 1884. p. 314, 1174.
- 7) Trinchera, La clin. vétérin. 1888. p. 78.
- 8) Smith and Kilborne, Abortion in Mares. (8. and 9. Ann. Rep. of the Bur. of Anim. Industr. 1891 and 1892.)
- 9) Turner, Infectious Abortion in Mares. (Amer. Veterin. Rev. Vol. 17. p. 187.)
- 10) Penberthy, Enzootic Abortion of Mares. (The Journ. of Compar. Pathol. and Therap. Vol. 7. p. 362.)
- 11) Schöttler, Seuchenartiger Abortus bei Pferden. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 20. p. 339.)
- 12) Bang, Maanedsskr. f. Dyrlæger. X p. 321; ref. in Jahresber. von Ellenberger und Schütz. 1899. p. 82.
- 13) Williams, Amer. Veterin. Rev. No. 68. p. 642.
- 14) Sohnle, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 12. p. 337.
- 15) Ostertag, Zur Aetiologie der Lähme und des seuchenhaften Abortus des Pferdes. (Monatsschr. f. prakt. Tierheilk. Bd. 12. p. 392.)
- 16) Desoubry, Bull. de la soc. centr. de méd. vétérin. No. 4. p. 62; ref. in Jahresber. a. d. Geb. d. veterin. Med. 1909. p. 116.
- 17) Guillerey, Ueber den epizootischen Abortus der Stuten. (Arch. f. Tierheilk. Bd. 29. p. 37.)
- 18) Poljakow, Zur Frage über das seuchenhafte Verwerfen der Pferde. (Arb. d. II. allruss. Veterinärkongr. in Petersburg. Bd. 2. p. 278.) [Russ.] Ref. in Jahresbericht. a. d. Geb. d. veterin. Med. 1903. p. 80.
- 19) Ostertag u. Zwick, W., Seuchenhafter Abortus der Haustiere. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. von Kolle u. Wassermann. Lief. 45. 1913.)

Nachdruck verboten.

Die Entamoeben des Menschen und ihre praktische Bedeutung.

[Aus dem Pathologischen Laboratorium in Medan (Deli-Sumatra)].

Von

Dr. W. A. Kuenen,
Direktor des Pathologischen
Laboratoriums in Medan.

und **Dr. N. H. Swellengrebel,**
Privatdozenten der
Universität Amsterdam.

Mit 2 Tafeln und 15 Textfiguren.

I. Einleitung.

Als im Jahre 1903 von Schaudinn der Unterschied zwischen den pathogenen und nicht-pathogenen Darmamöben des Menschen morphologisch begründet wurde und dadurch der alte Einwand, die Amöben seien nicht pathogen, weil sie auch bei gesunden Menschen sich finden, zurückgewiesen wurde, hielt wohl mancher das Problem der Aetiologie der tropischen Dysenterie für gelöst, zumal als auch die bacilläre Dysenterie mit ihrer eigenen pathologischen Anatomie und Aetiologie vom Gesamtbegriff der Dysenterie abgetrennt und die spezifische Pathologie der Amoebiasis scharf hervorgehoben wurde.

Es wurden aber nach und nach eine ganze Menge Tatsachen gefunden, welche den Wert der Schaudinnschen Angaben beeinträchtigten. Die Unterschiede der pathogene *E. histolytica* gegenüber der nicht-pathogenen Darmamöbe (*E. coli*) erwiesen sich nicht als zuverlässig, und zwar besonders darum nicht, weil der am meisten typische Unterschied (die Cystenbildung) bei *E. histolytica* nur von wenigen Forschern bestätigt wurde. Dazu kam noch, daß 1907 von Viereck eine neue Entamoeba bei Dysenterie aufgefunden wurde (*Entamoeba tetragena*), die sich noch weniger wie *E. histolytica* von *E. coli* zu unterscheiden schien. Auch wurden bei dem Versuche, die Darmamöben zu züchten, in den Kulturen Amöben aufgefunden, welche den freilebenden Amöben (*Amoeba Limax*) und ihren Varietäten vollständig glichen. Dieser Befund führte zu der Behauptung, die Darmamöben seien identisch mit den Limax-Amöben und letztere würden pathogen, wenn sie in den Darm gelangen; alle Darmamöben, mögen sie bei gesunden oder kranken Menschen gefunden werden, seien pathogen oder könnten es werden (Musgrave und Clegg, 1906).

Es wurde aber gezeigt, daß die gezüchteten Amöben überhaupt keine Darmamöben sind, und daß die in den Kulturen aufkommenden Amöben zu den Limax-Arten gehören, deren Cysten ubiquitär vorkommen und mit Wasser und Luft übertragen werden, so daß einer Infektion der Kulturen aus dem Darne einfach nicht vorzubeugen sei.

Weiter wurde von Hartmann (1912) gezeigt, daß die *E. tetragena* fast überall auf der Welt als Dysenterieerreger gefunden wird, und daß diese Amöbe sich von der unschädlichen *E. coli* deutlich unterscheidet; die Existenz von *E. histolytica* wurde dagegen mehr und mehr in Frage gestellt.

Da von Hartmann die Lösung der *Entamoeba*-Frage, die von Schaudinn nur scheinbar gebracht worden war, unseres Erachtens wirklich gefunden ist, aber die Hartmannschen Ansichten noch nicht

zu allgemeiner Gültigkeit gekommen sind, so halten wir es für angebracht, unsere in Deli an einem großen Material angestellten Beobachtungen ausführlich mitzuteilen. Dabei haben wir besonders auf die praktische Verwertung für Klinik und Hygiene Wert gelegt.

II. Material und Methoden.

Die von uns untersuchten Amöben, welche der Art *E. tetragena* angehören, stammen von Patienten, die in verschiedenen Spitälern des Landes aufgenommen waren. Die meisten Fälle stammten aus dem Spital der Deli-Maatschappij zu Medan. Herr Dr. van Hengel, Chef der internen Abteilung, hat uns beim Sammeln des Materials und Zusammenstellen klinischer Daten immer freundlichst zur Seite gestanden. Die Fundorte von *E. coli* waren teilweise Kranke, teilweise gesunde Leute.

Die Untersuchung geschah in erster Linie an lebendem Material, wie es sich in den frisch entleerten Faeces vorfindet. Dabei wurden noch besondere Hilfsmittel herangezogen; zum leichteren Erkennen der Amöben und Cysten und zur Feststellung, ob diese lebend oder tot sind, wurden sie in einer verdünnten Eosinlösung untersucht. Zur Darstellung vegetabilischer Inhaltskörper, wie Stärke und jodophiler Substanz (Glykogen), wurde die Untersuchung des frischen Materials auch in Lugolscher Lösung vorgenommen.

Zur Herstellung fixierter und gefärbter Präparate wurde die gewöhnliche, zuerst von Schaudinn (1903) angegebene, feuchte Fixierung in Sublimatalkohol angewandt. Es wurde kalte Sublimatlösung verwendet, ohne Zusatz von Essigsäure; das Material wurde auf Objektträger ausgestrichen und letztere wurden senkrecht in die Fixierungsflüssigkeit eingetaucht.

Die Fixierung der Amöben im Schleime bietet keine Schwierigkeiten, da der fixierte Schleim fest am Objektglase anklebt. Bei der Untersuchung der Amöben und Cysten in den Faeces geschieht es aber oft, daß die Ausstriche des fäkulenten Materials sich beim Eintauchen in die Fixierungsflüssigkeit oder bei den verschiedenen Spülungen vom Glase lösen. Diesem Uebelstande ist aber vorzubeugen, wenn man das Objektglas mit der Präparatseite nach unten flach in die, in einer Petri-Schale eingegossene Fixierungsflüssigkeit eintaucht, dergestalt, daß die präparierte Glasseite auf einmal im ganzen mit der Fixierungsflüssigkeit in Berührung kommt. Man hält das Glas so während einer Minute und achtet darauf, daß die Präparatseite mit keinen festen Gegenständen in Berührung kommt. Nachher kann man das Präparat ohne besondere Fürsorge weiter fixieren.

Zur Färbung verwendeten wir die Eisenhämatoxylinmethode nach Heidenhain und die Hämatoxylinfärbung nach Delafield. Erstere liefert die besten Bilder für cytologische Details, die zweite verläuft schneller, ist einfacher und ist darum für diagnostische Zwecke geeignet.

III. Die Entwicklung von *Entamoeba coli* (Lösch em. Schaudinn).

Bekanntlich wurde *Entamoeba coli* zuerst von Schaudinn (1903) als selbständige Art von den übrigen Darmamöben abgetrennt. Seitdem sind nur zwei Arbeiten, nämlich jene von Hartmann und Withmore (1912) und von Werner (1911) erschienen, in welchen die Morphologie und Entwicklungsgeschichte dieser Amöbe eingehend beschrieben wird. Diese Beschreibung weicht aber so sehr von der von

Schaudinn gegebenen Darstellung und auch von Prowazeks (1911) Schilderung der *E. coli* jedenfalls sehr nahe stehenden *E. Williamsi* ab, daß es uns angebracht erschien, eine ausführliche Mitteilung des Baues und der Entwicklung der in Sumatra gefundenen *E. coli* zu geben.

Die vegetativen Stadien von *E. coli* sind schon von Schaudinn, Werner und von Hartmann, Withmore eingehend geschildert worden; unsere Beobachtungen stimmen mit der Darlegung dieser Autoren völlig überein (Fig. 1—5).

Die Amöben haben eine Größe von 22—38 μ . Ganz kleine Formen, wie Werner sie beobachtete (1911), haben wir nicht gesehen. Der Kern ist ziemlich groß (4,6—7,6 μ), bald exzentrisch, bald mehr zentral gelegen (vgl. Fig. 3 u. 4). Ein einfaches oder geteiltes Karyosom ist meistens zu beobachten. Das periphere Chromatin ist oft mächtig entwickelt, bald mehr zusammenhängend, bald mehr bröckelig ausgebildet. Elmassian (1909) behauptet, der Kern von *E. coli* besitze eine dünne, wie mit einer Feder gezeichnete Kernmembran, und unterscheidet sich dadurch scharf von anderen Darmamöben (z. B. *E. minuta*). Demgegenüber wollen wir aber unsere obengenannten Befunde des Baues der Kernwand von *E. coli* aufrecht halten. Das Ektoplasma ist homogen ausgebildet und wird weniger stark tingiert, wie das Entoplasma, letzteres ist feinkörnig, von größeren Vakuolen durchsetzt. Oft sind darin stark färbbare Gebilde enthalten (Fig. 3). In den größeren Vakuolen finden sich die aufgespeicherten Nahrungspartikel, wie Bakterien (Fig. 2). Oefters wird ein größerer Teil der Amöben von mächtigen Stärkekörnern eingenommen (Fig. 1), die zumal bei Jodfärbung (am besten mit der Lugolschen Jodlösung auszuführen) schön blau darzustellen sind. Bei der Behandlung der Amöben im nativen Präparate mit Jodlösung fällt noch etwas anderes auf: Das Plasma wird dabei nämlich ganz oder nur teilweise rotbraun gefärbt, zumal dann, wenn die Amöben reichlich Stärkekörner aufgenommen haben. Diese Farbenreaktion beruht wahrscheinlich auf der Gegenwart von Glykogen, denn die anderen Farbenreaktionen dieser Substanz (Karminfärbung nach Best und die Gentianaviolett-Methode nach Lubarsch) fallen positiv aus und die jodophile Substanz wird vom Speichelferment in 24 Stunden aufgelöst, nicht dagegen vom Alkohol. Erythrocyten haben wir in *E. coli* nie aufgefunden, obwohl in einem der von uns untersuchten Fälle der Stuhl nicht unbeträchtliche Mengen blutigen Schleimes enthielt.

Kernteilung haben wir nicht beobachtet, zweikernige Stadien (Fig. 4) aber mehrfach. Einmal ist uns auch ein 8-kerniges Stadium begegnet, doch wissen wir nicht, ob hier ein vegetatives Stadium vorliegt, oder ein Stadium der Encystierung, wobei die Bildung der Membran eine ungewöhnliche Verzögerung erfuhr (Fig. 5). Die Kernteilung, wie Schaudinn sie beschrieb, haben wir nie gesehen.

Bei der Encystierung unserer Amöben wird die deutlich doppelt konturierte, mehr oder weniger gelblich glänzende Cystenwand schon sehr früh angelegt. Das jüngste diesbezügliche Stadium (Fig. 6) zeigt ein stark vakuolisiertes, klares Protoplasma mit nur sehr wenigen chromophilen Inhaltskörpern; Stärke, Bakterien und andere Nahrungspartikel sind völlig verschwunden. Der Kern ist groß, mit dicken peripheren Chromatinbrocken und einem mächtigen, oft etwas verschwommenen Karyosom. In dem nächsten Stadium (Fig. 7) sind die Vakuolen verschmolzen, und es hat sich eine einzige zentrale Vakuole ausgebildet,

welche aber ihre endgültige Größe noch nicht erreicht hat. In Fig. 7 hat sich das Cystenplasma etwas von der Membran zurückgezogen, wobei die letztere ganz frei wird und die doppelte Kontur deutlich zeigt. Das Karyosom des Kernes ist hier ringförmig ausgebildet. Fig. 8 zeigt den Kern im Anfange der Teilung, die Vakuole hat jetzt auch ihre definitive Größe erreicht und es finden sich schon einige langgestreckte Brocken chromophiler Substanz im Protoplasma. Nach der Kernteilung liegen die beiden Tochterkerne anfänglich noch dicht nebeneinander (Fig. 9), die chromophile Substanz hat sich jetzt reichlich entwickelt an der Grenze von Plasma und Vakuole. Im allgemeinen sind diese chromophilen Gebilde nur sehr ephemärer Natur; im nächsten Stadium, wo die Kerne auseinanderrücken (Fig. 10), fangen die Chromidien schon zu verschwinden an, doch können größere oder kleinere Reste derselben bis zum 8-kernigen Stadium persistieren. Die beiden Kerne nehmen eine einander mehr oder weniger diametrale Stellung ein. Hierbei sieht man sie bald als ovale (Fig. 10), bald als runde Körper. Es kann auch sein, daß der erste rund, der zweite schmal oval erscheint (Fig. 11); offenbar rührt dieses davon her, daß die Kerne eine linsenförmige Gestalt haben. In dem zweikernigen Stadium mit großer Vakuole beharren die Cysten längere Zeit, was aus ihrer relativen Häufigkeit hervorgeht.

Neben den hier geschilderten morphologischen Veränderungen gehen auch chemische einher. Die jodophile Substanz, die, wie schon bemerkt, in den vegetativen Stadien im Plasma zerstreut war, wird nunmehr in der Vakuole aufgespeichert. Bei Behandlung mit Jodlösung färbt sich das periphere Protoplasma mit den Kernen gelb, die Vakuole wird rotbraun tingiert. Auch bei der Färbung nach Best und Lubarsch nimmt sie Glykogenfarbe an. Es ist folglich diese Vakuole eine Reservestoff-Speicherstelle (wie Prowazek schon für *E. Williamsi* richtig erkannte, eine Behauptung, die für *E. coli* aber von Hartmann und Withmore zurückgewiesen wurde), ähnlich wie v. Prowazek (1904) bei *Trichomastix* gefunden hat. Es sei hier schon jetzt bemerkt, daß bei dem Verschwinden der Vakuole auch die Menge der jodophilen Substanz nach und nach zurückgeht. Sie verschwindet aber nicht gänzlich und man begegnet ihr noch in den 8-kernigen Cysten, jetzt aber (wie in den vegetativen Stadien) im Protoplasma zerstreut.

In Fig. 24 zeigt einer der Kerne schon Andeutung einer Teilung; das Karyosom ist spindelförmig ausgezogen. In Fig. 12 hat sich die achromatische Substanz des Kernes in Längsfäden angeordnet, von Karyosom oder Zentriol ist aber nichts zu sehen; deutlicher ist die Beteiligung des Karyosoms an der Kernvermehrung in Fig. 14.

Die Teilung der Kerne des binukleären Cystenstadiums verläuft meistens synchronisch, so daß 4 Kerne entstehen (Fig. 15), bisweilen bleibt aber zunächst ein Kern ungeteilt (Fig. 13). Im 4-kernigen Stadium ist die Vakuole schon im Verschwinden begriffen, ja kann sogar bereits verschwunden sein (Fig. 16). Durch weitere Kernteilung wird sodann das 8-kernige Stadium gebildet (Fig. 17—20). In diesem Stadium ist die Vakuole also fast immer verschwunden; in einzelnen Fällen wurde sie aber noch beobachtet (Fig. 19). In diesem Falle waren auch die Chromidien noch reichlich vorhanden, während diese im 8-kernigen Stadium gewöhnlich fast völlig verschwunden sind.

Die fertige, 8-kernige Cyste hat einen Durchmesser von 16—25 μ . Das Protoplasma hat eine feinwabige Struktur, oft sind in den Maschen des Plasmanetzes feinste Körnchen eingelagert. Man kann Cysten mit

kleinen ($1,9-2,3 \mu$, Fig. 17), großen ($3-4,2 \mu$, Fig. 18) und gemischten Kernen unterscheiden, die schon in vivo unschwer zu sehen sind. Ueber die Bedeutung dieses Kerndimorphismus wagen wir nicht Näheres zu sagen. Wie bemerkt, gibt es in den Cysten, wo die Vakuole bereits verschwunden ist, nur spärliche Chromidien. Bisweilen beobachtet man eigentümliche, splitterförmige Chromidien (Fig. 27), wie Prowazek sie bei *Entamoeba Williamsi* beschrieb, oder auch schleifenartige Chromidien (Fig. 20), welche sich wie ein Bruchteil eines Meridiankreises der Peripherie der Cyste entlang ziehen.

Den oben geschilderten Entwicklungsgang halten wir für den normalen. Doch gibt es Variationen, die mit Rücksicht auf die von Schaudinn und Prowazek beschriebene, von Hartmann und Withmore aber gelegnete Autogamie nicht ohne Bedeutung sind. Die erste Kernteilung innerhalb der Cyste kann gänzlich heteropol vor sich gehen, wobei zwei ungleich große Kerne herausgebildet werden (Fig. 21). Im 2-kernigen Stadium finden sich bisweilen neben den beiden Kernen noch mehrere (1—3) kleinere Kerne vor (Fig. 22, 24) ebenso im 3-kernigen Stadium, wie Fig. 23, und 25 zeigen. Endlich kommen im 8-kernigen Stadium ebenfalls ein oder zwei solcher kleinen Nebenkern zur Beobachtung (Fig. 26). Fig. 22 erinnert lebhaft an eine Reduktionsteilung, wobei man erwarten könnte, daß die beiden großen, reduzierten Geschlechtskerne kopulieren würden. Nur beobachtet man niemals eine solche Kopulation und die Bildung dieser „Reduktionskerne“ ist bei weitem kein konstantes Ereignis. Wir glauben, die hier angeführten Bilder so erklären zu müssen, daß bei der Encystierung vor der ersten äqualen Kernteilung ein kleiner Kern abgeschnürt wird (Fig. 21). Nachher verläuft die Teilung des großen Kernes regelmäßig, indem der kleine Kern entweder sogleich zugrunde geht, oder vorher noch einige Teilungen ausführt; die so herausgebildeten Nebenkern können dann mehr oder weniger lange persistieren. Gewisse Bilder (Fig. 14, 15) können aber auch darauf hinweisen, daß die heteropole Abschnürung von Nebenkernen auch in späteren Stadien der Encystierung stattfinden könnte. Wie dem auch sein mag, alle die von uns beobachteten Tatsachen weisen darauf hin, daß die Bildung dieser Nebenkern auf eine Entwicklungsanomalie zurückzuführen ist, eine Anomalie, die aber auf gewissen Stufen Stadien einer Autogamie vortäuscht. Bilder, wie in Fig. 22, sollten bei der Beurteilung von „autogamischen“ Prozessen auch bei anderen Amöben zur Vorsicht bei der Deutung mahnen. Zuletzt möchten wir noch darauf hinweisen, daß sich die Befunde von mehr als 8 Kernen in den Cysten von *E. coli*, wie sie z. B. von Hartmann und Withmore beobachtet wurden, vielleicht durch das Persistieren und die Weiterentwicklung dieser Nebenkern erklären lassen.

Entamoeba coli wurde in Deli nur selten aufgefunden. Die oben gegebene Beschreibung wurde auf Grund von drei Befunden bei einem Javanen und bei zwei Europäern (V. und v. S.) aufgestellt. Die Exemplare von *E. coli*, welche von diesen drei Fällen herstammten, stimmen morphologisch nicht völlig überein. So wurden bei dem Javanen einkernige Cysten mit zentraler Vakuole nicht aufgefunden, und nur bei Fall V. fanden sich bisweilen die Nebenkern in den Cysten vor. Fall v. S. war durch das Auftreten von 8-kernigen Cysten mit vielen Chromidien und persistierender, zentraler Vakuole charakterisiert. Dennoch glauben wir nicht, berechtigt zu sein, auf Grund dieser Differenzen verschiedene Arten aufzustellen.

Es erscheint uns auch fraglich, ob die von Prowazek als eigene Art aufgestellte *E. Williamsi* zu Recht besteht. Als Unterschied der *E. coli* gegenüber wird angegeben: Eigentümliche perinukleäre Exkretionskristalle, die Art und Weise, wie die Amöbe sich bewegt und ernährt, die splitterartigen und fadenförmig gebogenen Chromidien, das Persistieren der zwei Kerne der Cyste nach der ersten Kernteilung und die 10-kernigen Cysten. In einer späteren Veröffentlichung wird auch über eine 16-kernige Cyste berichtet. Die drei zuletzt genannten Charaktere finden sich auch bei den von Hartmann-Withmore und von uns untersuchten Amöben; die Bewegungsweise und Nahrungsaufnahme ist, wenn nicht gänzlich, so doch in bedeutendem Maße vom Medium abhängig und wohl kaum als Artunterschied zu verwenden; es bleiben uns somit nur die Exkretionskristalle als Unterschied der *E. coli* gegenüber. Es ist sehr wohl möglich, daß es sich nachträglich herausstellen wird, daß *E. Williamsi* doch eine eigene Art ist und daß auch die von Hartmann-Withmore und von uns unter dem Namen *Entamoeba coli* zusammengefaßten Amöben verschiedenen, wenn auch nahe verwandten Arten angehören. Vorläufig erscheint es uns aber vorteilhafter, alle beim Menschen gefundenen Amöben, die den allgemeinen Charakteren von *E. coli* entsprechen, einfach mit dem Namen *Entamoeba coli* zu belegen. Diese allgemeinen Charaktere sind in nachfolgender Diagnose zusammengefaßt:

Amöben von durchschnittlich 20—40 μ Größe, die aber auch kleiner werden können. Vermehrung durch Zweiteilung, vielleicht auch durch Schizogonie. Plasma grob vakuolisiert, mit Nahrungspartikeln wie Bakterien, Stärkekörnern (nach Hartmann auch Erythrocyten) erfüllt. Cystenwand doppelt konturiert. Erwachsene Cysten mindestens 8-kernig, bisweilen 10-, 12- oder 16-kernig. Während der Cystenbildung ist das 2-kernige, vakuolisierte Stadium, in welchem die Cyste längere Zeit beharrt, als besonders charakteristisch zu betrachten. Die reifen Cysten enthalten bisweilen Chromidien, die aber nur selten zu einzelnen großen Brocken zusammenschmelzen.

Zum Schlusse noch einige Angaben über die klinische Bedeutung von *E. coli*. Es läßt sich hierüber nach unserer Erfahrung wenig Bestimmtes aussagen. Es wurde *E. coli* hier während 3 Jahren 4mal mit Sicherheit gefunden. Die Träger waren Leute, die an Darmbeschwerden nicht spezifischer Natur litten, welche Beschwerden bei geeigneter Diätarreicherung völlig verschwanden. Einmal wurde bei einem solchen Patienten Emetin verwendet, die Amöben wurden aber von dieser Therapie absolut nicht beeinflusst, sie waren 3 Tage nachher noch reichlich im Stuhle vorhanden, ohne irgendwelche Degenerationserscheinungen aufzuweisen, während die Amöben von *E. tetragena* bei Emetinbehandlung meistens schon nach 24 Stunden typische Degeneration zeigen und nach 48 Stunden verschwinden. Dreimal fanden wir bei Eingeborenen Coli-artige Amöben ohne Cysten, auch da waren leichte Darmbeschwerden nachzuweisen, die ebenfalls einer Diätänderung wichen. So weit unsere Erfahrung reicht, liegt kein Grund vor, bei den genannten Beschwerden *E. coli* irgendwelche ätiologische Bedeutung beizumessen; die Beschwerden könnten ja ebensogut die Folge von Diätfehlern oder von anderen Krankheiten sein.

IV. Die Entwicklung von *Entamoeba tetragena* (Viereck).

Wie bei *Entamoeba coli* hat auch bei *E. tetragena* Hartmann in seiner neuesten Arbeit (1912) unsere morphologischen Kenntnisse wesentlich bereichert. Er hat gezeigt, daß die aus verschiedenen Weltteilen stammenden Dysenterieamöben dieser Art angehören und daß die unter anderen Namen beschriebenen Dysenterieamöben (*E. histolytica*, *E. nipponica*) alle oder doch fast alle zu *E. tetragena* zu rechnen sind. Die von uns untersuchten, zu *E. tetragena* gehörenden Amöben

stammen von vielen hier beobachteten Dysenteriefällen; dabei hatten wir das Glück, 16 Fälle zu finden, wo Cystenbildung auftrat, wodurch wir imstande waren, diesen Vorgang in allen Einzelheiten zu verfolgen. Außerdem waren wir in der Lage, einzelne Fälle während längerer Zeit (bis zu 3 Monaten) zu beobachten, wobei wir eine bessere Einsicht gewannen in die Variationen, welchen *E. tetragena* während ihres Aufenthaltes im Darm unterliegt.

Bei dieser Untersuchung hat es sich herausgestellt, daß *E. tetragena* 3 deutlich voneinander zu unterscheidende Phasen der Entwicklung aufweist:

In der ersten Phase ist sie ein echter Gewebeparasit und lebt im Gewebe der Darmwand (bei Leberabszessen im Lebergewebe), wo sie die typischen Erscheinungen der Amoebiasis bedingt. Die Amöben dieses Stadiums sind jenen gleich, welche Hartmann (1912) als typische *Tetragena*-Amöben beschrieb, mit stark entwickelten, breiten Pseudopodien, homogenem, kaum vakuolisiertem Entoplasma, mit Erythrocyten als Inhaltkörper und großem Kern. Eigentlich gehören sie nur ins Gewebe, sie werden aber auch mit blutigen Schleimfetzen aus den Geschwüren abgestoßen und so dem Darminhalt beigemischt. Diese Entwicklungsphase belegen wir mit dem Namen *Histolytica*-Stadium.

In der zweiten Phase lebt die Amöbe in dem Darminhalt selbst, ist also kein Gewebeparasit mehr, sondern verhält sich mehr wie etwa *Entamoeba coli*. In diesem Stadium ist sie kleiner wie im *Histolytica*-Stadium, ebenso ihr Kern; das Entoplasma ist deutlich vakuolisiert und weist als Inhaltkörper bisweilen Erythrocyten, vielfach aber vegetabilische Gebilde auf. Das Ektoplasma ist in der Ruhe meistens unsichtbar, die Pseudopodien sind kleiner wie im *Histolytica*-Stadium. Diese Amöben vermehren sich lebhaft und können monatelang im Darmlumen der Dauerausscheider leben; sie gleichen vollkommen jenen Amöben, die von Elmassian als *E. minuta* beschrieben wurden (1909). Darum nennen wir dieses Entwicklungsstadium das *Minuta*-Stadium.

In der dritten Phase der Entwicklung treten die Cysten auf, wobei zunächst Chromidienbildung, Bildung einer großen, zentralen Vakuole und bedeutende Kernvergrößerung stattfindet. Das Ende dieser Entwicklungsphase stellt die 4-kernige Cyste dar, welche bisweilen noch Chromidien, selten noch eine Vakuole besitzt.

Diese Darlegung der Entwicklung von *E. tetragena*, welche zumal in der Bedeutung des *Minuta*-Stadiums als selbständige persistierende Phase (und nicht nur als Uebergang zum Cystenstadium) vom bekannten Schema abweicht, werden wir nunmehr, durch ausführliche Beschreibung von 3 Fällen und kurze Erwähnung von 13 Fällen, bei welchen die Cystenbildung auftrat, zu belegen versuchen. Um dem Vorwurfe zu entgehen, heterogene Elemente zu einer künstlichen Serie zusammengestellt zu haben, werden wir die 3 Fälle nacheinander behandeln.

1. Fall: Sutowikromo.

Die Patientin Sutowikromo wurde am 14. Febr. 1913 unter Erscheinungen von Amöbendysenterie ins Spital der Deli-Maatschappij aufgenommen. In dem Stuhl wurden Amöben im *Histolytica*-Stadium aufgefunden. Bei der Behandlung (Emetin) verschwanden diese Amöben, es traten aber Cysten auf. Am 22. Febr. wurden 4-kernige Cysten gefunden, am 26. Febr. 2-kernige Cysten und *Minuta*-Formen, ebenso am 18. März. Am 22. März wurden nur noch Urmengen *Minuta*-Stadien aufgefunden, am 26. März zeigten sich wiederum *Histolytica*-Formen. Der Stuhl, der sich während dieser Zeit dünnflüssig, mit mehr oder weniger Schleim gemischt, aber frei von Blut gezeigt hatte, wies nunmehr blutigen Schleim auf. Die Emetinbehandlung (seit 16. Febr. ein-

gestellt) wurde wieder durchgeführt bis 2. April, und dabei verschwanden wieder die *Histolytica*-Formen. Am 30. März bis 2. Mai wurden aber wieder 2- und 4-kernige Cysten (auch wenige 8-kernige) aufgefunden, daneben auch viele *Minuta*-Formen. Nach dem 3. Mai wurden keine Parasiten mehr aufgefunden, der Stuhl nahm nach und nach normale Konsistenz an und am 17. Mai konnte Patientin als geheilt entlassen werden, nach mehr als dreimonatlicher Beobachtung.

Bei dieser Patientin konnte die vollständige Entwicklung der *E. tetragena* vom *Histolytica*-Stadium bis zur 4-kernigen Cyste verfolgt werden. Die in Fig. 37—53 dargestellte Serie, wie sie hier beschrieben wurde, bezieht sich auf die seit 26. März beobachteten Formen.

*Histolytica*stadium.

Die Amöben (Fig. 37), die im blutigen Schleime der Entleerung während des Dysenterieanfalls gefunden werden, sind ziemlich groß (25—30 μ). Das Ektoplasma ist (auch im ruhenden Zustande) an einigen Exemplaren gut ausgebildet, fehlt aber bei vielen vollständig, oder wird jedenfalls so dünn, daß es nicht mehr zur Beobachtung gelangt; es werden dabei die Pseudopodien fast gänzlich vom Entoplasma gebildet.

Das Entoplasma ist feinkörnig und besitzt nur wenige, nicht scharf begrenzte Vakuolen. Bisweilen aber ist es stark vakuolisiert, zumal in degenerierenden Individuen. Als Inhaltskörper sind vor allem Erythrocyten zu verzeichnen¹⁾ die fast in allen Zellen sich finden. Chromidien waren nur in beschränktem Maße vorhanden, Bakterien und Stärkekörner fanden sich in diesem Falle nicht vor. Mittels Jodlösung kann in einem Teile der Zellen eine sich rotbraun färbende Substanz nachgewiesen werden, welche diffus das Plasma durchtränkt und wahrscheinlich glykogenartiger Natur ist.

Der Kern ist groß (6—7 μ), in vivo meistens schon deutlich zu erkennen, wenn die Amöbe nicht zu sehr mit Erythrocyten ausgefüllt ist. Im gefärbten Präparate fällt zunächst das wandständige Chromatin und das zentrale Karyosom auf, dazwischen beobachtet man mehr oder weniger deutlich einen Kranz von Chromatin, welcher das Karyosom umgibt (Fig. 37). Diese Strukturbilder, welche für das *Histolytica*-Stadium charakteristisch sind, gehören zu der Serie der von Hartmann zusammengestellten „cyklischen Aenderungen“ am Karyosom. Kernteilung wurde nicht beobachtet. Diese Amöbe hielt sich in den entleerten Faeces nur kurze Zeit und war schon nach wenigen Stunden abgestorben.

Unter Emetinbehandlung schwanden die *Histolytica*-Formen schnell, wurden aber ebenso schnell von *Minuta*-Formen und Cysten ersetzt.

*Minuta*formen.

Wie gesagt, traten diese nach der Emetinbehandlung auf. Bisweilen beobachteten wir zur Zeit des Verschwindens der *Histolytica*-Formen und des Auftauchens der *Minuta*-Formen Amöben, die noch ziemlich groß waren (22 μ), mit großem Kerne (6 μ), aber mit vakuolisiertem Plasma und strukturloser Kernsaftzone. Diese Formen führten zu den echten *Minuta*-Stadien, welche nunmehr in den Faeces selbst auftreten.

Die Amöben dieses Stadiums sind viel kleiner (12—16 μ), ihr Protoplasma enthält viele Vakuolen. Der Kern zeigt nicht mehr so deutlich die cyklischen Vorgänge im Karyosom und ist auch kleiner (3—3,4 μ). Es werden in diesem Stadium bisweilen noch Erythrocyten aufgenommen,

1) In E. H.-Präparaten färben die Erythrocyten innerhalb der Amöben sich tief schwarz.

vielfach aber auch Bakterien und Stärkekörner (Blaufärbung mit Jod). Besonders fallen auch Chromidien auf, die aber nicht in jeder Zelle zu finden sind.

Bei Jodbehandlung kann im Protoplasma dieser Formen oft reichlich jodophile Substanz nachgewiesen werden. Die Teilung dieser Amöben geht wahrscheinlich durch Vielteilung vor sich, jedenfalls haben wir öfters 3- und 4-kernige Individuen beobachtet (Fig. 40). Dieses Minuta-Stadium ist auch von Hartmann erwähnt worden; er gibt aber an, daß es nur kurz vor der Encystierung auftritt, während wir es in diesem Falle längere Zeit (etwa 3 Monate) in dem Darminhalt beobachteten. Wir betrachten es daher als ein echtes Darmsaprozoon. In den aufbewahrten Faeces bleiben diese Formen viel länger als die *Histolytica*-Formen am Leben.

Cysten.

Aus den Minuta-Formen gehen die Cysten hervor, und zwar nicht etwa in der Weise, daß alle Amöben sich encystieren, sondern dieses geschieht nur mit einem Teile derselben, indem die anderen sich weiter vermehren; so kommt es, daß man monatelang Cysten auf verschiedenen Stufen der Entwicklung und Minuta-Formen nebeneinander finden kann.

Die Cysten haben eine Größe von 11—14 μ , vereinzelt kommen auch größere Exemplare (bis zu 19 μ) vor. Sie sind also durchschnittlich kleiner wie die Cysten von *Entamoeba coli*, nur ausnahmsweise kann eine kleine Coli-Cyste so groß sein wie eine *Tetragena*-Cyste. Die Cystenwand bei *E. tetragena* ist nicht so scharf ausgeprägt wie bei *E. coli*. Eine doppelt konturierte Membran, die auch an der intakten Cyste auffällt, haben wir nie gesehen; wir beobachteten nur einen stark lichtbrechenden Kontur des Protoplasmas. Bei Schrumpfung des Cysteninhalts tritt die Membran aber deutlich hervor.

In vivo zeigen die Cysten sich als helle Kugeln oder Ellipsoide, in welchen die Chromidien als stark lichtbrechende Gebilde deutlich hervortreten. Die Kerne sind nur selten deutlich zu sehen im 4-kernigen Stadium; im 1-kernigen Stadium tritt der Kern aber hervor.

Die erste Stufe der sich ausbildenden Cyste wird vom 1-kernigen, vakuolisierten Stadium dargestellt (Fig. 41). Der Kern ist peripher gelegen, die zentrale Vakuole nimmt den größten Teil der Cyste ein. In diesem Stadium beharren die Cysten längere Zeit, wir schließen dieses jedenfalls aus der relativen Häufigkeit dieses Stadiums. Wie bei *E. coli* erhält auch hier die Vakuole jodophile Substanz, das periphere Plasma ist von demselben ganz frei; bei Behandlung mit Lugolscher Lösung färbt letzteres sich gelblich, die Vakuole wird aber rotbraun tingiert¹⁾. Die Chromidien sind in diesem Stadium am deutlichsten ausgebildet. Sie stammen wahrscheinlich, jedenfalls teilweise, vom Kerne her, wo sie allem Anschein nach von der Peripherie abgestoßen werden (Fig. 42). Doch sind die Chromidien, wie sie fertig ausgebildet an der Grenze der zentralen Vakuole und des peripheren Protoplasma liegen, viel größer, wie die vom Kerne abgestoßen Chromatinbrocken; es ist also wahrscheinlich, daß auch das Protoplasma sich am Wachstum der Chromidien beteiligt, wie Hartmann schon vermutete. Die Tatsache, daß die Chromidien ihre maximale Ausdehnung erreichen zugleich mit der Vakuole

1) Bei Färbung nach Best färbt die Vakuole sich rot; auch hier handelt es sich also wahrscheinlich um Glykogen.

und daß sie auch zusammen verschwinden, könnte darauf hindeuten, daß sie genetisch zusammenhängen; darauf deutet auch die Lage der Chromidien um die Vakuole herum hin.

Der Kern ist in diesem Stadium viel größer wie bei den Minuta-Formen ($5-6\ \mu$), er hat eine linsenförmige Gestalt, was sich dadurch kundgibt, daß der Kern rund erscheint, wenn man ihn von oben her betrachtet (er ist dann scheinbar im Zentrum der Vakuole gelegen), und oval, wenn er von der Seite her beobachtet wird. Hier, wie im *Histolytica*-Stadium, beobachtet man Chromatin in der Kernsaftzone, welches netzartige Struktur zeigt oder in einem Kranz um das Karyosom angeordnet ist (Fig. 43). Bei der Teilung wird der Kern spindelförmig ausgezogen, das Karyosom wird fadenförmig verlängert und teilt sich nachher (Fig. 44). In dem so ausgebildeten 2-kernigen Stadium (Fig. 45) werden die Chromidien oft aufgelöst, nicht selten persistieren sie aber und können noch im 4-kernigen Stadium beobachtet werden. Auch die Vakuole verschwindet und mit derselben die jodophile Substanz; es färben sich also die späteren Cystenstadien mit Jod nur gelblich; nur selten persistiert die jodophile Substanz, indem sie das Cystenplasma diffus durchtränkt. Die Kerne im 2-kernigen Stadium stehen, was die Größe betrifft, zwischen jenen des 1- und 4-kernigen Stadiums. Wir haben den Eindruck, daß bei diesen Kernteilungen die Kernsubstanz nur unbedeutend heranwächst und einfach über 4 Kerne verteilt wird.

Die weitere Teilung der 2 Kerne, die synchronisch oder succedan verläuft, haben wir ebenfalls beobachten können. Es treten dabei wiederum Spindelformen auf, bisweilen beobachtet man eine deutliche äquatoriale Chromatinansammlung nach der Teilung des Karyosoms (Fig. 46).

In dem 4-kernigen Stadium ist die Vakuole verschwunden. Das Protoplasma zeigt eine feinwabige Struktur, Chromidien in mehr oder weniger korrodiertem Zustande sind öfters vorhanden. Die Kerne sind viel kleiner, wie im 1-kernigen Stadium ($1,4-2,7\ \mu$). Sie sind entweder regellos durch das Plasma zerstreut, oder paarweise gelegen (Fig. 47-50). Dabei beobachtet man nicht selten zwei kleine und zwei große Kerne (Fig. 50). Einen bedeutenden Unterschied in der Kerngröße der verschiedenen Cysten, wie wir sie bei *E. coli* beschrieben, haben wir hier nicht beobachtet. Die Kerne zeigen ein deutliches, meistens exzentrisch gelegenes Karyosom und oft einseitige periphere Chromatinansammlungen.

Meistens sistiert die Entwicklung auf diesem Stadium; die ausgebildete Cyste bleibt 4-kernig. Am 13. März 1913 beobachteten wir in einigen Cysten mehr als 4 ($5-6-8$) Kerne (Fig. 51-53). Natürlich wird man geneigt sein, an eine Mischinfektion mit *E. coli* zu glauben, aber erstens wurde im vorliegenden Falle niemals *E. coli* gefunden und zweitens zeigten diese mehrkernigen Cysten in ihrem Aussehen keine Ähnlichkeit mit *Coli*-Cysten, vor allem mangelte ihnen die für letztere Art so charakteristische doppelt konturierte Cystenwand. Auch in diesen polynukleären Cysten findet man bisweilen beträchtliche Unterschiede in der Kerngröße (Fig. 52). Offenbar haben wir hier ein Analogon mit den 10-16-kernigen Cysten von *E. coli* vor uns.

Während der Ausbildung der Cysten haben wir nie irgendwelche Andeutung von Reduktionsteilungen oder autogamische Prozesse beobachtet.

2. Fall: Javanische Frau aus dem Emigrantenbureau.

Bei diesem Falle handelt es sich um eine Patientin, die am 10. April 1910 an typischer Dysenterie litt, mit *Histolytica*-Amöben im blutigen Schleime. Im nächsten Monat, als die Entleerungen keine Blutbeimischung mehr zeigten, wurden *Minuta*-Formen, Uebergänge vom *Histolytica*- zum *Minuta*-Stadium und 1-kernige Cysten gefunden.

Hier zeigten sich während des Dysenterieanfalls am 10. April 1910 die typischen *Histolytica*-Formen (Fig. 28—31). Sie stimmen vollkommen mit den Amöben von Fall 1 überein, nur gibt es dabei größere Formen ($37\ \mu$), auch enorm große 2-kernige Teilungsformen ($70\ \mu$), (Textfig. 1). Als Inhaltkörper sind wieder Erythrocyten und feine Chromidien zu erwähnen. Einmal fanden wir eine Amöbe, die neben Erythrocyten in einer Vakuole einen ganzen Haufen von Bakterien enthielt (Fig. 30); bisweilen findet man auch Amöben mit splitterartigen Chromidien erfüllt (Fig. 29).



Textfig. I. Große 2-kernige *Histolytica*-Form. (Zeiss Okul. No. 12 Obj. $\frac{1}{12}$ O.-I.; die Zeichnung wurde später auf $\frac{1}{4}$ verkleinert.)

Als Kuriosum ist noch der Befund zu erwähnen von einer mit Bakterien strotzend erfüllten Amöbe, welche ihrem Bau nach offenbar dem *Histolytica*-Stadium angehörte; da die Bakterien ganz normal aussahen und viele Teilungsstadien aufwiesen, glauben wir, hier eine bakterielle Infektion der Amöbe vor uns zu haben.

Bei weiterer Untersuchung im Mai 1910, als die Dysenterieerscheinungen sistierten, wurden in dem Stuhle *Minuta*-Formen gefunden, daneben auch Amöben, welche durch Kernbau und Protoplasmastruktur sich als *Histolytica*-Formen dokumentierten, nur kleiner waren. Sie zeigen zunächst noch das wenig vakuolisierte Plasma, den typischen Kern mit dem Karyosom von einem Kranze von Chromatinkörnchen umgeben, welche das *Histolytica*-Stadium charakterisieren; im Plasma zerstreut liegen stäbchenförmige Chromidien (Fig. 31). Später (Fig. 32, 33) treten Vakuolen auf; der Chromatinkranz um das Karyosom verschwindet nach und nach und der Kern zeigt zuletzt jenen Bau, den wir schon für die *Minuta*-Formen von Fall 1 kennen gelernt haben (Fig. 34). Dabei liegen in den Vakuolen auch Inhaltkörper.

Neben diesen Amöben wurden ferner 1-kernige Cysten gefunden. Im Präparate sind diese etwas geschrumpft und zeigen dabei deutlich die dünne Cystenwand (Fig. 35—36). Diese Cysten zeigen denselben Bau wie jene des 1-kernigen Stadiums von Fall 1, mit peripherem, großen Kerne, zentraler Vakuole und den darum gelagerten Chromatinklumpen. 2-kernige Stadien wurden sehr selten beobachtet, 4-kernige konnten nicht aufgefunden werden, doch kann bei der absoluten Uebereinstimmung des Baues von Amöben und Cysten mit Fall 1 und mit dem noch zu beschreibenden Fall 3 kein Zweifel bestehen, daß hier *E. tetragena* vorliegt.

3. Fall: M. d. B.

Hier handelt es sich um ein europäisches Mädchen, das Darmbeschwerden unklarer Natur hatte. Sie zeigte am ersten Krankheitstage weiche, mit Schleim und etwas Blut gemischte Entleerung. Während der 9 folgenden Tage war dem Stuhle nur Schleim beigemischt. Im Schleime und in den Faeces fanden sich während der ersten 2 Tage Unmassen von *Minuta*-Formen und Cysten (1—4-kernig) vor. Unter energischer

Behandlung schwanden die Amöben und Cysten, doch zeigten sich noch während 3 Monaten dann und wann leicht verlaufende Rezidive, die einer Behandlung nicht Stand hielten. Dabei traten immer wieder *Minuta*-Formen auf. Die Rezidive stellten sich nach und nach ein; bei einer 3 Jahre später auftretenden Pseudodysenterie (Typus Y) wurden keine Cysten mehr gefunden.

Im frischen Präparate finden sich sehr viele, langsam herumkriechende, kleine Amöben; sie zeigten stumpfe Pseudopodien, die aus Ektoplasma bestanden. Daneben fanden sich ruhende Amöben, an denen kein Ektoplasma sichtbar war, und Cysten. Diese Amöben (Fig. 54–58) sind 14,6–16,9 μ im Durchmesser, die Teilungsformen bis 19,4 μ . Als Inhaltskörper fanden wir keine Erythrocyten, weniger Chromidien wie in Fall 2, dagegen oft Stärkekörner (Fig. 56) wie in Fall 1. Oefers fanden wir 2- und 4- (Fig. 57–58) kernige Stadien und auch einige Male eine Kernteilung (Fig. 55), wobei der Kern spindelförmig, das Karyosom fadenförmig ausgezogen war, letzteres mit einer Anschwellung in der Mitte und an den beiden Enden. Wie gewöhnlich war das Plasma mit kleinen Vakuolen erfüllt. Die Kerne der 4-kernigen Individuen waren sichtlich kleiner und lagen in einer Gruppe zusammen. Wir deuten diese Bilder als Stadien einer Schizogonie, obwohl die 4-kernigen Stadien auch auf verzögerte Zweiteilung zurückgeführt werden könnten. Wie dem auch sein mag, sicher ist es, daß diese *Minuta*-Formen in lebhafter Vermehrung begriffen sind.

Der Kern bietet das uns jetzt schon bekannte Bild eines zentralen Karyosoms, einer körnchenfreien Kernsaftzone und wandständigen Chromatins.

Die Cysten, welche während der ersten Tage neben den Amöben zu finden waren, bildeten sich in der üblichen Weise aus. Der Kern vergrößert sich und die Bildung der Chromidien geht offenbar von der Kernmembran aus (Fig. 59). Dann tritt die zentrale Vakuole auf und die Chromidien sind um die Vakuole gelagert. In der Kernsaftzone bildet sich eine, hier netzartig angeordnete, das Karyosom umgebende Chromatinmasse, als Zeichen der erneuerten Tätigkeit des Karyosoms (Fig. 60). Die erste Kernteilung (Fig. 61), welche in einem Stadium beobachtet wurde, wo das Karyosom sich schon geteilt hat, führt zum 2-kernigen Stadium, in welchem die Chromidien und die zentrale Vakuole zu schwinden anfangen (Fig. 62). Auch in diesem Falle imponierte uns die relative Häufigkeit des 1-kernigen, vakuolisierten Stadiums; wie in Fall 1 ist dieses unseres Erachtens auf ein zeitweises Sistieren der Entwicklung zurückzuführen. Die Kerne teilen sich, wobei wiederum Spindelbildung auftritt (Fig. 63), und so wird das 4-kernige Stadium ausgebildet. In diesem Stadium ist die Vakuole noch bisweilen vorhanden (Fig. 64)¹⁾, fehlt aber meistens (Fig. 68) und ist nie so scharf ausgeprägt wie im 1-kernigen Stadium. Wie in Fall 1 liegen die Kerne bald paarweise (Fig. 65), bald in einem Haufen beieinander. Die Cystenwand bildet sich schon im 1-kernigen Stadium, sie ist dünn und nicht doppelt konturiert und dadurch schwer zu beobachten. Daß sie aber dennoch vorhanden ist, zeigen die 1,3 und 4-kernige Cysten in Fig. 66–68, wo das Protoplasma etwas geschrumpft ist. Diese Cysten fanden sich im Stuhle, der 48 Stunden aufbewahrt war. Die darin gefundenen, 3-kernigen Stadien zeigen, daß die letzten zwei Kernteilungen nicht immer synchronisch verlaufen.

1) In solchen Fällen ist in der Vakuole noch Glykogen nachweisbar.

4. Andere Fälle.

4. Javanischer Kuli zeigte am 9. März 1912 dünne Faeces mit Histolytica-Formen, Minuta-Formen und 1-kernigen Cysten. Am 10. März, 4-kernige Cysten. Am 11. März tritt blutiger, eitriger Schleim in der Entleerung auf und es finden sich nur Histolytica-Formen. Am 14. März ist die Entleerung wiederum fäkulent und sind Histolytica-Formen nur noch spärlich zu finden. Am 16. März ist die Entleerung halbfest und es zeigen sich nur noch Minuta-Formen.

5. Kind eines Tamils mit Enteritis. Der Fall ist darum bemerkenswert, weil hier keine deutliche Dysenterie vorlag und keine typisch 1-kernigen Cysten aufgefunden wurden. Es waren nur Minuta-Formen und 2—4-kernige Cysten da, die aber ganz den Tetragena-Typus zeigten. Anfänglich waren wir geneigt, die Cysten als Coli-Cysten anzusprechen, des vereinzelt Auftretens von 8-kernigen Cysten wegen (obwohl das 2-kernige vakuolisierte Stadium fehlte und die Cysten vielmehr dem Tetragena-Typus sich näherten). Da wir aber in Fall 1 auch einzelne solcher Cysten gefunden haben, zögerten wir nicht, die vorliegenden Stadien als *E. tetragena* anzusprechen.

6. Herr Sch. litt im September 1912 an Amöbendysenterie, welche sich ziemlich schnell besserte. Ende Oktober stellten sich Erscheinungen eines Leberabszesses ein, welche Beschwerden unter Emetinbehandlung verschwanden. Im Anfang November (5.—7./11.) wurden im Stuhle Minuta-Formen und alle Cystenstadien aufgefunden. Dabei zeigten sich noch einige 4-kernige Cysten, die offenbar sehr plastisch waren (Fig. 69); vielleicht rührt dieses von dem Mangel einer festen Cystenwand her. Patient behält wochenlang leichte Darmbeschwerden; in den bald mehr flüssigen Stühlen finden sich immer Minuta-Formen und Cysten, welche der Emetinbehandlung trotzen. Im Januar 1913 reist er nach Europa als Cystenträger ab.

7. Herr v. O. Patient ist seit längerer Zeit an chronischer Dysenterie erkrankt mit wechselnd festem und flüssigem Stuhle. Am 19. Febr. 1913 ist der Stuhl normal, es finden sich Minuta-Formen und 1- und 2-kernige Cysten in demselben. Am 24. Februar tritt eine Exazerbation ein; im blutigen Schleime finden sich Histolytica-Formen, in den fäkulenten Teilen der Entleerung Minuta-Formen und sehr selten auch 4-kernige Cysten. Am 4. März, als der Stuhl die normale Konsistenz zurück gewann, fanden sich nur 4-kernige Cysten.

Die weiteren 9 von uns untersuchten Fälle, bei denen Cystenbildung auftrat, zeigten alle deutliche Dysenterieerscheinungen; 5 gehören in die Kategorie von Fall 3. Es fanden sich nur Minuta-Formen und weiter alle Stadien der Cystenbildung mit höchstens 4-kernigen Cysten. Bei 3 Fällen fanden sich nur Cysten (1—4-kernig).

5. Ueberblick.

Aus der Beschreibung der von uns untersuchten Fälle, wobei wir die ganze Entwicklung der *E. tetragena* oder nur einen Teil derselben beobachteten, glauben wir schließen zu dürfen, daß in dieser Entwicklung drei Phasen miteinander abwechseln, von welchen die erste (die Histolytica-Form oder Dysenterieamöbe sensu strictiori) nur bei dem eigentlichen Dysenterieanfall sich findet, während die beiden anderen Formen zwar auch schon dann vorhanden sein können, aber vorzugsweise auftreten, wenn die Faeces anfangen, fester zu werden. Von diesen beiden Formen stellt die eine, die Minutaamoeba, die saprozoische Phase der *E. tetragena* dar; sie lebt im Darm, ernährt sich mit Speiseresten und vermehrt sich daselbst durch Zweiteilung und Schizogonie. Die zweite Form, die Cyste, ist eine Dauerform und dient nur der Erhaltung und Verbreitung der Art. Soweit wir beobachteten, entstehen die Cysten nur aus den Minuta-Formen, niemals direkt aus den Histolytica-Formen. Es sind nur die Minuta-Formen, die nach jeder Richtung sich ändern können; einerseits gehen aus ihnen Cysten hervor, andererseits die Histolytica-Formen.

Unsere Befunde, welche sich sonst fast vollkommen mit der Hartmannschen Darstellung decken, weichen insofern davon ab, daß Hartmann, der das Minuta-Stadium auch beschrieb, letzteres nur als einen Uebergang zur Enzystierung betrachtet, während wir es Wochen, ja selbst Monate lang neben den Cysten im Darmtraktus beobachteten,

ohne daß *Histolytica*-Formen anwesend waren, aus denen fortwährend neue *Minuta*-Formen hätten hervorgehen können. Auch Darling (1912), der die *Minuta*-Formen als „small generation“ beschreibt, scheint dieses lange Persistieren derselben nicht beobachtet zu haben.

Es stimmt unsere Beschreibung mit jener, welche Elmassian (1909) von seiner *Entamoeba minuta* gab, überein, nur hat er nie *Histolytica*-Formen beobachtet und hat darum eine neue Art aufgestellt. Wie wir aber schon darlegten, sind wir auch solchen Fällen beggnet. Es stimmten aber die dabei gefundenen Amöben so sehr mit den *Minuta*-Formen einer vollständigen *Tetragena*-Serie überein, und auch die Cystenbildung war so vollständig dieselbe, daß wir nicht daran zweifeln können, es mit derselben Art zu tun zu haben. Wir nehmen also an, daß in Elmassians Falle und in unserem Fall M. d. B. das *Histolytica*-Stadium unterdrückt wurde, oder jedenfalls schon vor Anfang der Beobachtung endgültig verschwunden war. Die Cystenbildung von Elmassians Amöbe zeigt deutlich die *Tetragena*-Eigentümlichkeiten (einkernig vakuolisiertes Stadium, Chromidien, 4-kernige Cysten)¹⁾, nur seine 8-kernigen Cysten konnten irreführen; unsere Befunde von dem gelegentlichen Vorkommen 8-kerniger Cysten bei *E. tetragena* (Fall Sutowikromo) sind aber geeignet, diese Schwierigkeit zu erklären. Wir glauben also, Elmassians *E. minuta* als *E. tetragena* und nicht, wie Hartmann es tut, als *E. coli* auffassen zu müssen.

Eine zweite Art, die neuerdings von Prowazek (1912) beschrieben worden ist, welche nach diesem Autor *E. coli* nahe steht, gehört unseres Erachtens wahrscheinlich zu *E. tetragena*. Es ist dieses *E. Hartmanni*. Diese Art hat meistens 4-kernige, dünnwandige Cysten; 8-kernige Stadien wurden auch gefunden, waren aber sehr selten. Als Eigentümlichkeit dieser Amöbe werden die bakterienartigen Chromidien erwähnt, ebenso der Dimorphismus der Kerne innerhalb der Cysten. Prowazeks Befunde stimmen in allen Punkten mit den von uns an *E. tetragena* erhaltenen überein, nur die vegetativen Stadien sind besonders klein. Offenbar hat Prowazek nur die *Minuta*-Formen vor Augen gehabt, welche nach unseren Erfahrungen in der Größe außerordentlichen Variationen unterliegen (vgl. Fall 1—3).

Die dritte von Prowazek (1912) beschriebene menschliche Amöbe (*E. Bütschlii*) ist noch zu unvollständig bekannt, als daß man über ihre systematische Stellung entscheiden könnte, wie Verfasser auch selbst angibt. Beim Studium der Abbildungen erschien es uns aber wahrscheinlich, daß hier mehrkernige *Minuta*-Formen mit pyknotischen, also bereits degenerierten Kernen vorliegen.

Nach der erschöpfenden Darstellung Hartmanns und der neuerdings erschienenen Veröffentlichung Ornsteins (1913) brauchen wir über die Existenzberechtigung von *E. histolytica* kaum mehr zu diskutieren. Die Chromidienbildung mit Auflösung des Kernes haben wir öfters gesehen, deuten diese aber als Degeneration, da sie besonders unter ungünstigen Bedingungen (z. B. unter Emetinwirkung) auftrat. Dabei finden sich Stadien vor, die vollkommen mit Koidzumis (1909) *E. nipponica* übereinstimmen. Auch Andeutung von exogener Cysten-

1) Vgl. seine Figuren 8—10, 49 (einkernige, vakuolisierte Cysten); 15—20 (zweikernige Cysten mit verschwindender Vakuole); Fig. 22, 23, 32—34, 50—51 (vierkernige Cysten). Zwar verzeichnet E. das Vorkommen einer doppelt-konturierten Membran, er gibt aber an, diese doppelte Kontur sei oft sehr undeutlich. Nur seine Figur 52 kann kaum etwas anderes als eine *Coli*-Cyste darstellen.

bildung wurde von uns beobachtet; wir konnten uns aber überzeugen, daß es sich hier um knopfförmige Ausstülpungen des Ektoplasmas handelte, welche teilweise infolge des ungleichmäßigen Eindringens der Differenzierungsflüssigkeit bei der E.-H.-Methode schwarz geblieben waren.

Es kommen sowohl bei den *Histolytica*- als auch bei den *Minuta*-Formen der *E. tetragena* so mannigfaltige Variationen vor, daß uns die Abtrennung neuer Arten auf Grund subtiler Unterschiede der vegetativen Formen vorläufig nicht berechtigt erscheint. Vorläufig sagen wir, denn wir möchten — wie bei *E. coli* — ausdrücklich darauf hinweisen, daß wir nicht endgültig die Unität der *E. tetragena* behaupten wollen; mit unserer Auseinandersetzung soll nur gesagt sein, daß zunächst für eine Zerlegung der Art *E. tetragena* kein zwingender Grund vorliegt¹⁾.

Als Diagnose der Art *E. tetragena* (Viereck) kann unseres Erachtens heute gelten:

Amöben im Schleime (*Hystolytica*-Stadium) von 20—40 μ Größe, die Teilungsstadien können größer werden. Entoplasma homogen oder undeutlich vakuolisiert, oft Erythrocyten einschließend. Ektoplasma meistens mächtig entwickelt. Kern groß (6—7 μ), mit deutlich zyklischen Vorgängen am Karyosom. In den Faeces (*Minuta*-Stadien): Amöben kleiner, 12—17 μ (Teilungsstadien bis 20 μ), stark vakuolisiertes Entoplasma mit vegetabilischen Einschlüssen; Kern kleiner (3—4 μ), ohne deutliche zyklische Aenderungen am Karyosom. Cysten 10—15 μ (selten bis zu 19 μ), im erwachsenen Zustande 4- (selten 8-)kernig; während der Entwicklung ist das 1-kernige vakuolisierte Stadium mit großem Kerne besonders charakteristisch²⁾.

6. Variation des Amöbenbildes in den Entleerungen.

Es gibt sehr viele Fälle von Amoebiasis, welche ausheilen oder zum Tode führen, ohne daß es jemals zur Bildung von *Minuta*-Formen oder Cysten kommt³⁾. Speziell ist dieses der Fall bei der Behandlung mit Emetinum hydrochloricum. Es verschwinden meistens (obwohl leider nicht immer) die Amöben in 2- oder 3mal 24 Stunden ohne weiteres aus den Faeces; aber auch unter Emetinbehandlung können die *Minuta*-Formen und Cysten auftreten (Fall Sutowikromo). Das Auftreten

1) Einige menschliche Amöben wurden hier nicht erwähnt. Es sind:

Entamoeba tropicalis (Lesage 1908). Es ist schwer, aus der Beschreibung und den etwas schematischen Skizzen über ihre Selbständigkeit oder Zugehörigkeit zu einer der bekannten Arten ein Urteil auszusprechen. Die Amöbe teilt sich und die so gebildeten kleinen Amöben encystieren sich. Die Cysten sind 3—13-kernig. Vielleicht sind die großen Amöben mit dem *Histolytica*-, die kleinen mit dem *Minuta*-Stadium der *E. tetragena* zu identifizieren.

E. phagocytoides (Gauducheau 1908), *Amoeba hominis* und *A. faecalis* (Walker 1908). Diese Arten stammen alle aus Amöbenkulturen. Da bis jetzt in den Kulturen nur *Limax*-Amöben aufkamen, können wir diese Organismen nicht als echte Entamoeben ansprechen. Dasselbe gilt von der von Noc (1909) gezüchteten Amöbe, deren Zugehörigkeit zu der *Limax*-Gruppe von Nägler (1909) und Swellinggrebel (1910) nachgewiesen wurde; weiter von den Amöben von Bell (1909) und Greig-Wells (1911); letztere Autoren geben selbst an, wie gefährlich die Kulturmethode bei dem Amöbenstudium ist, da die *Limax*-Amöben überall hineingeraten; dasselbe hat auch neuerdings Walker (1911) erkannt. Wie sehr diese Methode irreführen kann, zeigt Gauducheaus (1912) Arbeit, der die Identität der Genera *Entamoeba* und *Trichomonas* behauptet. Neuerdings haben auch Chatton und Lalung-Bonnaire (1912) auf die Irrtümer bei der Amöbenkultur hingewiesen.

2) Wir wollen noch ausdrücklich auf die Häufigkeit dieses Stadiums hinweisen, weil Hartmann angibt, es komme nur ganz selten vor.

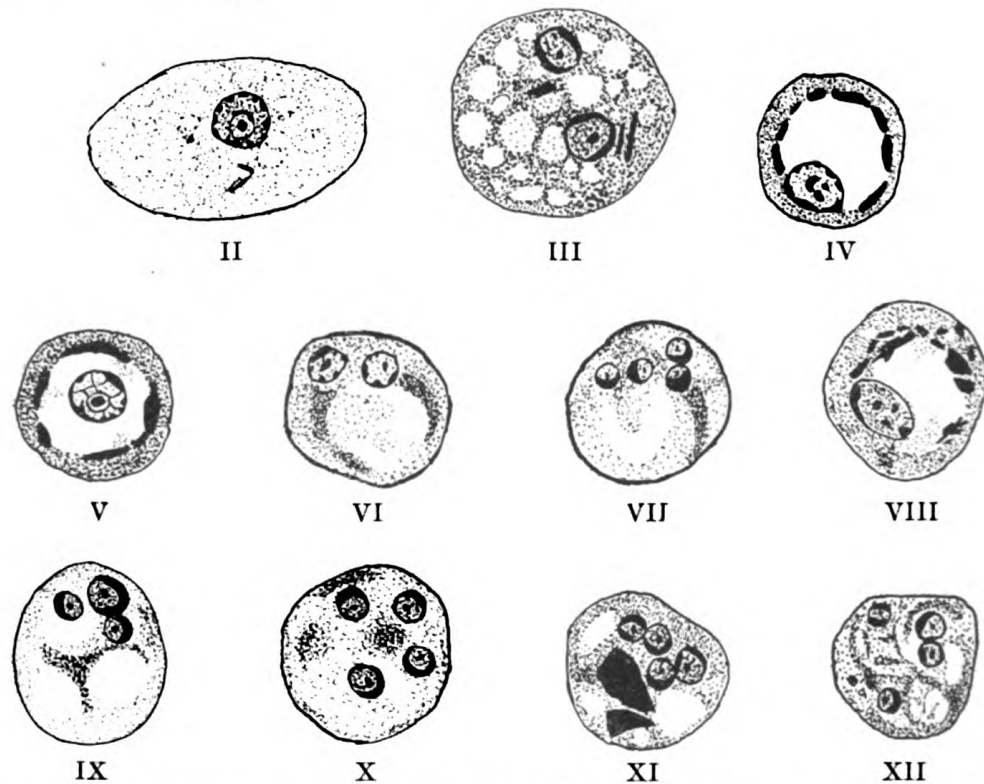
3) Vom 1. November 1912 bis 1. Juni 1913 wurden im Spital der Deli-Maatschappij zu Medan 27 Fälle von Amoebiasis beobachtet; nur in 4 dieser Fälle trat Cystenbildung auf.

dieser Formen ist also zurückzuführen auf eine bestimmte Wechselwirkung von Träger und Parasit (Immunitätsverhältnisse), welche nur in einem Teile der Fälle auftritt; das Auftreten der Minuta-Formen ist darum auch meistens mit einer Besserung der Krankheitserscheinungen verbunden. Es scheint aber, daß, wenn einmal die Minuta-Formen sich im Darminhalt angesiedelt haben, diese immer wieder bereit sind, invasiv zu werden und sich in Histolytica-Formen umzuwandeln. Denn klinisch bieten die Dauerausscheider vielfach folgendes Krankheitsbild: Nach Heilung des ersten, mehr oder weniger heftigen Dysenterieanfalls kommen nach einer Zeit von relativem Wohlbefinden Rückfälle, von sehr verschiedener Intensität; erstens leichte Reizerscheinungen, wobei der Stuhl etwas weniger gebunden und frequenter wird; zweitens stärkere Reizungen, wobei mehr das Bild einer Enteritis auftritt (frequente, dünne Stühle, mit mehr oder weniger Schleim gemischt, häufig Bauchschmerzen); drittens echte Rezidive der Dysenterie mit blutig-schleimigem Stuhle usw.

Diesem Wechsel der Erscheinungen geht eine Schwankung in der Zusammensetzung des Amöbenbestandes parallel. Ein gutes Beispiel liefert uns Fall 7. Bei der ersten Untersuchung ist der Amöbenbestand von Minuta-Formen und Cysten (1—2-kernig) gebildet; 5 Tage später, bei der Exazerbation, treten aber wiederum Histolytica-Formen auf, obwohl neben diesen in den fäkulenten Teilen der Entleerung noch Minuta-Stadien und Cysten aufzufinden sind. Nach dem Ueberstehen des Dysenteriefalles schwinden die Histolytica-Formen und es treten 4-kernige Cysten auf. Dasselbe haben wir auch bei Fall 1 gesehen; hier waren die Schwankungen noch häufiger: Zuerst vom Histolytica-Stadium zum Minuta-Cysten-Stadium; dann zurück zum Histolytica-Stadium und zuletzt wiederum Rückkehr zum Minuta-Cysten-Stadium. Speziell bei letzterem Fall, wo kurz vor der Exazerbation die Minuta-Formen sich stark vermehrten, gewannen wir den Eindruck, daß die Exazerbation durch das Invasivwerden der Minuta-Formen bedingt wird, d. h. durch die Tatsache, daß diese Formen ihr saprozoisches Dasein aufgeben, in die Darmwand eindringen und zu Histolytica-Formen werden. Viele der chronischen Tetragena-Cysten-träger zeigen dergleichen Krankheitserscheinungen, welche sich monatelang, ja selbst jahrelang hinziehen können. Der Amöbenträger ist immer einem Rezidiv ausgesetzt; es droht ihm die Gefahr einer Metastase (Leberabszeß, siehe Fall 6) und er bildet eine ständige Gefahr für seine Umgebung.

Es würde aber ein Fehler sein, zu glauben, daß die Rezidive immer nur auf diese Weise entstehen; im Gegenteil, auch in Fällen, wo die genaueste Untersuchung der Faeces nach der anscheinenden Ausheilung einer Amoebiasis keine Amöben oder Cysten mehr aufweist, sieht man nach kürzerer oder längerer Zeit Rezidive auftreten (so z. B. nach Emetin-Behandlung). Bei der größeren Resistenz der Minuta-Formen gegenüber allen Einflüssen (auch gegenüber Emetin) erscheint es vielleicht möglich, daß gerade sie es sind, welche sich in kleiner Anzahl im Darmlumen halten. Aber es liegt immer die Möglichkeit vor, daß die Rezidive bedingt werden von Histolytica-Formen, welche sich in den Darmkrypten verstecken, oder in einem chronischen und symptomlosen Geschwür erhalten bleiben. Es geht mit dieser Frage wie mit jener über die Entstehung der Malariaresidive, wo auch noch die Meinungen geteilt sind, ob sie bedingt werden von überlebenden vegetativen Formen

oder durch die Schizogonie der weiblichen Gametocyten. Ob die Cysten sich an Rezidiven beteiligen, d. h. ob diese im Darne des Wirtes, wo sie gebildet wurden, auskeimen können, wissen wir nicht; wir haben jedenfalls nie ein solches Auskeimen beobachtet. Wahrscheinlich erscheint es uns, daß die Cysten, nur der Verbreitung der Art dienend, erst im Darne des nächsten Wirtes auskeimen.



Textfigur II—XII (Fall No. 1851, Spital Deli-Maatschappij). II—VII. Aus der Entleerung am 27. 11. 1912: II. Hystolytica-Form; III. Zweikernige Minuta-Form; IV. Einkernige Cyste von der Seite (Kern erscheint oval); V. Einkernige Cyste von oben (Kern erscheint rund); VI. Zweikernige Cyste mit verschwindenden Chromidien und Vakuole; VII. Vierkernige Cyste. VIII—XII. Aus der Entleerung am 29. 11. 1912: VIII. Einkernige Cyste von der Seite; IX. Dreikernige Cyste; X—XII. Vierkernige Cysten (Zeiss Okul. No. 6. Obj. 0. I. $\frac{1}{13}$).

Die Schwankung in der Zusammensetzung des Amöbenbestandes dokumentiert sich auch in der Zahl der mehr oder weniger reifen Cysten, welche entleert werden. So fanden wir einmal folgendes.

Im Stuhle eines Tetragena-Trägers finden sich am 27. 11. 1912 auf 100 Cysten:

79 im einkernigen Stadium (Textfigur IV—V),

8 im zweikernigen Stadium (Textfigur VI),

13 im vierkernigen Stadium (Textfigur VII).

Neben den Cysten sind ziemlich viele Minuta-Formen zu sehen, welche sich in reger Teilung befinden, da zweikernige Formen (Textfigur III) nicht selten sind.

2 Tage später, am 29. 11. 1912, ist der Befund ein ganz anderer. Es finden sich auf 100 Cysten:

12 im einkernigen Stadium (Textfigur VIII),

6 im zweikernigen Stadium,

2 im dreikernigen Stadium (Textfigur IX),

80 in vierkernigen Stadien (Textfigur X, XI, XII),

Minuta-Formen wurden gar nicht gefunden.

Am 27. 11. wurde also ein Amöbenbestand entleert, der ganz nach der Seite des Minuta-Stadiums verschoben war, ja es fanden sich selbst einige Exemplare vor, welche deutlich die Eigentümlichkeiten der Histolytica-Formen aufwiesen (Textfig. II), nämlich einen etwas größeren Kern mit Chromatin in der Kernsaftzone und einen verschwommenen, wabigen Bau des Protoplasmas.

Am 29. 11. dagegen war das Bild der Amöben im Stuhle ganz nach der Seite der reifen vierkernigen Cysten verschoben; nicht encystierte Minuta-Formen waren überhaupt nicht vorhanden. Es ist möglich, daß diese Unterschiede teilweise bedingt sind von dem längeren oder kürzeren Aufenthalt der Faeces im Dickdarm. Wird der Darminhalt schnell befördert und entleert, dann werden die jüngeren Stadien auftreten; verbleibt der Inhalt aber längere Zeit in der Flexura sigmoidea, dann werden nur reife Formen gefunden. Wir glauben, daß dieses nicht die einzige Ursache sein kann, denn in den entleerten Faeces selbst hört alle weitere Entwicklung der Cysten schnell auf, auch bei 37° C, wie wir uns häufig haben überzeugen können. Vielmehr ist auch hier die schon oben besprochene Wechselwirkung zwischen Wirt und Parasit im Spiel.

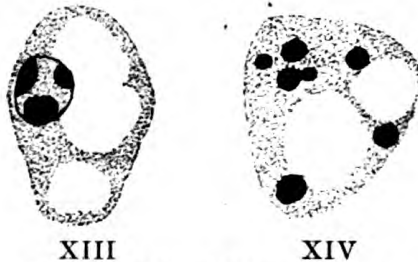
Nach dieser Auffassung steht also die saprozoische Minuta-Form im Zentrum. Sind die Bedingungen günstig, dann verschiebt sich das Amöbenbild nach der einen Seite: Zunächst werden die 4-kernigen Cysten selten, um endlich zu verschwinden (siehe Fall 2), und es treten sehr viele Minuta-Formen auf, zwischen welchen sich histolytica-ähnliche Formen auffinden lassen; zuletzt wird der ganze Bestand in die Histolytica-Form umgewandelt und ein Rezidiv ist da.

Verschiebt sich das Amöbenbild nach der entgegengesetzten Richtung, dann treten immer mehr reife Cysten auf; dabei werden die Minuta-Formen immer weniger häufig; zuletzt sieht man nur noch 4-kernige Cysten. Ein solcher Fall würde theoretisch zur Heilung führen, vorausgesetzt, daß keine Autoinfektion durch Auskeimen der Cysten stattfindet.

Neben diesen Verschiebungen des normalen Amöbenbildes treten auch abweichende Entwicklungsformen auf:

Die Histolytica-Form der *Amoeba tetragena* ist nach unserer Auffassung ein obligater Gewebsparasit, wird aber mit Schleim und Blut aus den Geschwüren abgestoßen und so dem Darminhalt beigemischt. Dort ist sie aber unter ungünstigen Verhältnissen und stirbt nach und nach ab. Dieses erklärt die Labilität der Histolytica-Formen in dem Stuhle, das wechselnde Verhalten des Ektoplasmas, das bald (auch in der Ruhe) mächtig entwickelt sein kann, bald kaum zu unterscheiden ist, so daß selbst die Pseudopodien fast aus Entoplasma bestehen. Vielfach sieht man an der Hinterseite der langgestreckt, fort-kriechenden Amöbe keine deutliche Wand, und das körnige Entoplasma scheint wie in einer Wunde bloßzuliegen; auch treten abnorm viele und große Vakuolen auf. In den gefärbten Präparaten sieht man, daß die Kerne oft pyknotisch werden und zuletzt in Chromatinbrocken zerfallen. Es kann auch das Chromatin des Kerns sich ansammeln in Form großer Brocken (Fig. XIII, XIV). Unter anderen Umständen treten splitter- oder fadenförmige Chromidien auf, wie in Fall 2 (Fig. 29). Die Chromidialtiere waren im Falle 2 nicht häufig; in anderen Fällen waren fast alle Histolytica-Formen mit solchen Chromidien erfüllt. In Schnitten durch die Darmwand von an Amoebiasis gestorbenen Personen

finden sich solche Chromidialtiere bisweilen sehr häufig, ja es können fast alle Amöben Chromidien aufweisen. Offenbar befinden sich die Amöben nach dem Absterben des Wirtes im toten Gewebe unter sehr ungünstigen Verhältnissen; wir halten folglich mit Hartmann (1911) diese Formen für erkrankte oder degenerierte Amöben.



Textfig. XIII—XIV. Degeneration von *Histolytica*-Formen bei Emetinbehandlung. XIII. Verklumpung des Chromatins innerhalb des Kernes. — XVI. Zerstreuung des Chromatins durch die ganze Zelle nach dem Kernschwund. (Zeiss, Okul. No. 6. Obj. O. I. $\frac{1}{14}$.)

Auch die Cysten zeigen häufig abweichende Formen: Wird der cystenhaltige Stuhl aufbewahrt, so zeigen die Cysten oft Schrumpfungen und dabei abnorme Aenderungen der inneren Struktur. Bei der Schrumpfung kann die feine Cystenmembran deutlich hervortreten (Fig. 66—68: Cyste aus 24 Stunden altem Stuhle). Bisweilen zeigen die Cysten diese Eigentümlichkeiten schon unmittelbar nach der Entleerung.

Das Protoplasma der geschrumpften Cysten wird in fixierten und gefärbten Präparaten stark gefärbt, so daß bisweilen der Kern ganz verdeckt wird. Auch in den Cysten treten häufig abnorme Mengen von Chromidien auf, welche bisweilen dem Kerne wie eine dichte Kappe aufsitzen. Es kann aber auch geschehen, daß die Chromidien zu früh verschwinden. Außerdem gibt es Fälle, wo die kernigen Stadien ohne Degenerationserscheinungen die zentrale Vakuole weniger deutlich zeigen. Auch können die Chromidien gröber oder feiner sein.

Alle diese Ursachen bedingen eine große Variabilität des Amöbenbildes, welche bei ungenügender Beobachtung leicht zu der Meinung verführen könnte, daß man verschiedene Arten vor sich hätte.

V. Diagnose der Amoebiasis.

Einer von uns hat schon vor 4 Jahren auf die außerordentliche Bedeutung der Frühdiagnose von Amöbendysenterie hingewiesen (Kuenen 1909) in Anbetracht der drohenden Gefahr einer Exazerbation und einer Metastasierung in der Leber, seltener in den Lungen und dem Gehirn; auch die Vorschriften über die Lebensweise werden von dem positiven oder negativen Ausfall dieser Diagnose in ausgedehntem Maße beeinflusst.

Wenn man das Proteusartige des klinischen Bildes der Amoebiasis und das Vorkommen andersartiger Colitiden berücksichtigt, so ist es ohne weiteres klar, daß nur die ätiologische Diagnose, d. h. der Nachweis von *E. tetragena*, maßgebend sein kann. 1909 war diese Diagnose noch mit Schwierigkeiten verknüpft; es war zwar schon der Unterschied zwischen harmlosen und schädlichen Amöben aufgestellt, aber eine Unterscheidung nur auf morphologische Gründe hin war damals zu unsicher, weil der wirkliche Dysenterieerreger (*E. tetragena*) noch zu wenig bekannt war in seiner Entwicklung und Verbreitung. Es kann uns also nicht wundern, daß damals von Kuenen nur jene Befunde als pathognomonisch bezeichnet wurden, bei welchen die Amöben im blutigen Schleime der Entleerungen gefunden wurden. Fanden die Amöben sich nur in den Faeces, so wurde der betreffende Fall nicht

als Amoebiasis angesprochen, obwohl darauf hingewiesen wurde, daß es auch gesunde oder fast gesunde Träger von Dysenterieamöben geben müßte. Diesen Standpunkt, welcher schon damals als ein vorläufiger, durch ungenügende Kenntnis bedingter, angesprochen wurde, können wir jetzt verlassen, und wir sind berechtigt, zu behaupten, daß alle jene Fälle, wobei *E. tetragena* in irgendeiner Entwicklungsphase entleert wird, als Amoebiasis anzusprechen, und daß die betreffenden Patienten für sich selbst und andere gefährlich sind.

Bei der Diagnose muß man darauf achten, ob man es 1) mit akuten, dysenterischen Prozessen mit blutig-schleimiger Entleerung zu tun hat, oder 2) mit chronischen, larvierten oder in Heilung begriffenen Fällen, wo die Faeces schon normal oder fast normal sind und vielleicht nur noch geringe Schleimbeimischung ohne Blut zeigen.

1. Untersuchung des blutigen Schleimes.

Es wird der blutige Schleim ohne weiteres untersucht. Sind Amöben vorhanden, so kann man fast sicher sein, es mit dem *Histolytica*-Stadium von *E. tetragena* zu tun zu haben, zumal dann, wenn die Amöben Erythrocyten gefressen haben. Die Untersuchung der Amöben soll womöglich *in vivo* geschehen, da nur die beweglichen Amöben sich mit Sicherheit von den im Schleime sich befindenden Körperzellen unterscheiden lassen. Es wird das Auffinden der Amöben im Schleime, besonders wenn nur wenige Individuen da sind, sehr erleichtert durch das Aufschwemmen des amöbenhaltigen Materials in einer 1-proz. Eosinlösung. Es sind die Amöben dann schon bei schwacher Vergrößerung (Zeiss Obj. A, Okul. No. 2) als helle Blasen auf rosarotem Untergrunde zu sehen. Die Form des Kernes unterscheidet die Amöben zur Genüge von den Darmepithelzellen und Leukocyten (letztere haben einen relativ viel größeren Kern); kann man also den Kern sehen, dann kann man auch bei nicht beweglichen Zellen mit Sicherheit entscheiden, ob man es mit Amöben zu tun hat, oder nicht. Oft ist der Kern im ungefärbten Präparate ohne weiteres erkennbar, vielfach aber ist er verdeckt. Dann kann er aber bisweilen noch mittels der Lugolschen Lösung zur Darstellung gebracht werden; es wird dabei das amöbenhaltige Material in der Jodlösung aufgeschwemmt.

Kann man die mikroskopische Untersuchung nicht sofort vornehmen, so fertigt man am besten feucht fixierte Ausstrichpräparate an auf Objekt- oder Deckgläsern, welche man in Glasdosen, die mit Schaudinn'scher Sublimatlösung gefüllt sind, mit nach Hause nimmt. Da werden sie dann mit Delafield'schem Hämatoxylin gefärbt. Bei solchen gefärbten Präparaten hat man noch den Vorteil, daß man auch den für die *Histolytica*-Formen charakteristischen Kernbau (mit Chromatin in der Kernsaftzone) studieren kann. Wenn irgend möglich, soll die Anfertigung feucht fixierter Delafield-Präparate nicht unterlassen werden. E.-H.-Präparate geben zwar schönere Bilder, ihre Anfertigung ist aber umständlich.

Es ist noch zu bemerken, daß unter Umständen im Schleime amöboide Stadien von Flagellaten vorkommen. Diese zeichnen sich durch ihre Kleinheit und ihren Kernbau (großes Karyosom) aus.

2. Untersuchung der fäkulenten Entleerungen.

Wenn die zu untersuchenden Amöben sich in den Faeces finden, so wird die Untersuchung schwieriger, da die Gefahr einer Verwechselung mit *E. coli* droht. Doch ist die Untersuchung unter keinen Umständen zu vernachlässigen, da gerade hier Gelegenheit geboten wird zum Auffinden der Dauerausscheider. Hierbei kann man sowohl Amöben wie Cysten finden.

a) Amöben.

Diese können *Tetragena*-Amöben sein (dann fast nur *Minuta*-Formen), *Coli*-Amöben oder amöboide Stadien von Flagellaten. Letztere zeichnen sich durch ihre Kleinheit und durch ihren Kern mit relativ großem Karyosom aus.

Die Unterscheidung der Entamoeben kann unter Umständen außerordentlich schwer, ja fast unmöglich werden, da beide Amöbenarten saprozoisch im Darmlumen leben und beide vegetabilische Nahrungspartikel (Stärkekörner, Bakterien) aufnehmen können. Die Kleinheit der *Minuta*-Formen im Vergleiche zu *E. coli* kann aber einen Anhaltspunkt für die Diagnose geben und außerdem sind die *Minuta*-Formen meistens von Cysten begleitet. Zum Aufsuchen der Amöben in den Faeces kann die Eosinmethode gute Dienste leisten. Die Faecesamöben (sowohl *Minuta*- wie *Coli*-Formen) sind meistens etwas resistenter wie die *Histolytica*-Formen, doch wird man gut tun, wenn man die Untersuchung nicht innerhalb einiger Stunden vornehmen kann, feucht fixierte Dauerpräparate anzufertigen, die nachher nach Delafield gefärbt werden in

ähnlicher Weise, wie bei den Schleimamöben. (Hierbei beachte man, daß die Ausstriche reiner Faeces leicht vom Objektglase sich ablösen und folge den in „Material und Methoden“ gegebenen Vorschriften zur Verhütung dieses Uebelstandes.)

b) Cysten.

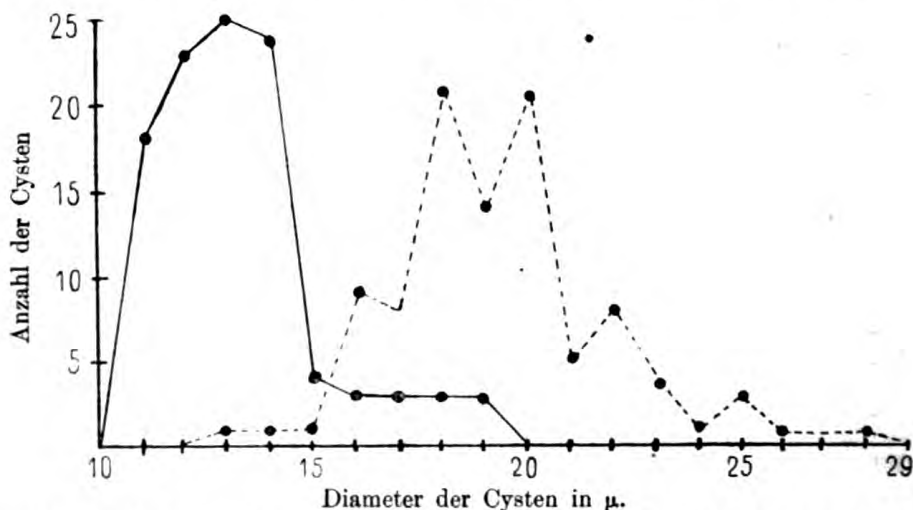
Auch die Cysten können zu *E. coli* oder *E. tetragena* gehören. Zunächst gilt es aber, die Entamoeba-Cysten überhaupt aufzufinden. Man muß dazu das zu untersuchende Material verdünnen (am besten mit der Eosinlösung) und dabei nicht zu viel Material verwenden, so daß man eine dünne Emulsion bekommt, in welcher alle Bestandteile deutlich zu sehen sind. Beachtet man diese Vorschrift nicht, so werden die Cysten von anderen Faecesteilen verdeckt.

In solchen Präparaten zeigen die Cysten sich als runde oder ovale Gebilde; sie sehen etwas flach aus und sind weniger glänzend wie Fetttropfen. Oft zeigt sich an ihnen ein grünlicher Schimmer. Man beachte die Möglichkeit der Verwechslung mit Flagellatencysten folgender zwei Arten:

Trichomonas. Die Cysten können unter Umständen so groß werden wie *Tetragena*-Cysten. Sie sind aber leicht an den mächtigen Reservestoffballen (mit Lugolscher Lösung braun) und dem lateralen Plasmastreifen mit 2 oder mehr sehr kleinen Kernen kenntlich.

Lambliä. Die Cysten sind durch die ovale Form, durch ihre zwei oder vier Kerne mit großem Karyosom und durch die eigentümlichen Chromatinstreifen ausgezeichnet (mit Lugolscher Lösung deutlich darzustellen). Auch sind sie bedeutend kleiner wie die *Tetragena*-Cysten.

Hat man sich überzeugt, daß man es mit Entamoeba-Cysten zu tun hat, so muß man noch zwischen *E. coli* und *E. tetragena* unterscheiden. Die Differenzierung der Cysten der beiden Arten macht nur wenig Schwierigkeiten. Bei *E. coli* fällt sofort die dicke, doppelkonturierte Cystenwand auf, die ausgebildete Cyste zeigt nach Jodbehandlung oder nach Fixierung in Formalin (10 Proz.) deutlich die 8 Kerne, auch in vivo sind sie oft deutlich zu sehen; bei Jodbehandlung ist auch meistens in der ausgebildeten Cyste noch Glykogen nachweisbar. In derselben Weise kann man bei *E. tetragena* die 4 Kerne nachweisen, die in vivo meistens weniger deutlich sind; jodophile Substanz ist in den erwachsenen Cysten meistens nicht mehr vorhanden und die Cystenwand ist dünn, nicht doppel konturiert. Es finden sich zwar bei *E. tetragena* auch 8-kernige Cysten vor; diese sind aber sehr selten und die Gefahr, daß man 4-kernige, halberwachsene Cysten von *E. coli* für *E. tetragena* halten könnte, hat darum keine wesentliche Bedeutung, weil das 4-kernige Stadium der *Coli*-Cysten nur vorübergehend vorhanden ist und man, selbst in großen Ansammlungen von diesen Cysten aller Entwicklungsstadien, die 4-kernigen Stadien nur relativ selten findet. Bei der Differenzierung der halberwachsenen Cysten (wenn keine 4-kernigen Stadien da



Textfig. XV. Graphische Darstellung der Diameter von 100 Cysten von *E. coli* und 100 Cysten von *E. tetragena*. Auf der Abszisse sind die Diameter (in μ) eingetragen; auf der Ordinate die Zahl der Cysten, welche den gleichen Diameter hatten.

E. tetragena: —————
E. coli: - - - - -

sind) von *E. coli* und *E. tetragena* sind neben der Struktur der Cystenwand die 2-kernigen, vakuolisierten (*E. coli*) und einkernigen, vakuolisierten (*E. tetragena*) Stadien maßgebend, deren innere Struktur man wiederum in geeigneter Weise mittels der Lugolschen Lösung zur Darstellung bringt. Der Kern der 1-kernigen *Tetragena*-Cysten ist schon in vivo oft zu sehen. In diesem Stadium fallen auch in vivo die Chromidien als große, stark lichtbrechende Brocken auf. Es sind diese Stadien in nach Delafied gefärbten Präparaten auffallend und leicht zu erkennen. Es sei noch darauf hingewiesen, daß die Cysten von *E. coli* meistens etwas größer sind, wie jene von *E. tetragena*. Dieses wird durch nebenstehende graphische Darstellung (Textfig. XV) der Durchmesser von je 100 Cysten der *E. coli* und der *E. tetragena* klar. Zugleich zeigt sich aber, daß Cystenmessung zur Speciesdiagnose bei den Entamoeben mit Vorsicht zu verwenden ist, da kleine *Coli*-Cysten kleiner sind, wie große *Tetragena*-Cysten. Endlich ist noch zu bemerken, daß, falls man die Untersuchung nicht sogleich vornehmen kann, man den cystenhaltigen Stuhl zweckmäßig in 10-proz. Formalin fixiert. Dieses hat noch den Vorteil, daß die Kerne dabei ganz scharf, fast wie in gefärbten Präparaten, hervortreten, was wiederum die Differenzierung zwischen *E. coli* und *E. tetragena* erleichtert.

VI. Resistenz der Amöben und Cysten von *E. tetragena* gegen über äußeren Einflüssen.

Die Beobachtung, daß gesunde oder doch anscheinend gesunde Personen längere Zeit (beim Fall Sutowikromo während 3 Monaten) Dauerformen der *E. tetragena* ausscheiden, deutet darauf hin, daß hier, wie beim Abdominaltyphus, Virusträger auftreten, deren direkter oder indirekter Kontakt (durch Verunreinigung der Nahrungsmittel mit den von ihnen ausgeschiedenen Cysten) mit der Umgebung zu neuer Ansteckung Anlaß geben kann. Wie übertragen nun diese Cystenträger die Dauerformen auf ihre Umgebung? Erfolgt dieses nur in dem kurzen Abstände von Person zu Person, oder können sie auch Wasserläufe infizieren, und zwar in der Weise, daß die von ihnen abgelegten Cysten von Regenwasser weitergespült werden und sich in den niedriger gelegenen Wasserläufen ansammeln, woselbst die Cysten von den dort badenden und trinkenden Leuten aufgenommen werden?

Diese Frage hat eine große praktische Bedeutung, indem bei letzterem Verschleppungsmodus nicht nur die nächste Umgebung des Cystenträgers gefährdet ist, sondern die Infektion sich auch auf größere Entfernungen verbreiten kann, was natürlich auf die anzuordnenden prophylaktischen Maßnahmen bedeutenden Einfluß übt.

Um die durch diese Betrachtungen aufgestellten Fragen lösen zu können, müssen wir uns zunächst über die Lebensfähigkeit der entleerten Cysten orientieren, ein Studium, das, soweit uns bekannt, bis jetzt ziemlich vernachlässigt worden ist.

Wie erfährt man, ob eine Cyste noch lebend oder schon abgestorben ist? Die Infektion von Katzen könnte hier helfen, leider aber mißlingt diese sehr oft mit ganz frischem Material, so daß diese Methode sich zu ausgebreiteter Forschung kaum eignet. Wir haben also eine andere Methode suchen müssen.

Bekanntlich werden lebende Zellen von einer verdünnten Eosinlösung nicht gefärbt; eine solche Lösung ist jedenfalls, wenn sie nicht zu lange bei Lichte einwirkt, unschädlich. Tote Zellen werden aber momentan von Eosin durchgefärbt¹⁾. Dieses gilt nicht nur von Pflanzenzellen, an welchen diese Methode zur Erkennung des Lebens oder des Todes vielfach geübt wird, sondern auch von Leukocyten, Infusorien und auch die Cysten und Amöben der *Entamoeba tetragena* verhalten sich dem Eosin gegenüber in ähnlicher Weise. Die frischen Cysten und Amöben

1) Vgl. z. B. Strasburger, Botanisches Praktikum. 4. Aufl. 1902. p. 357.

zeigen sich in verdünnter Eosinlösung als helle Blasen, welche sich so scharf von der Umgebung abheben, daß wir die Mischung der zu untersuchenden Exkrete mit Eosin zum leichteren und schnelleren Aufsuchen der Cysten und Amöben verwenden konnten.

Stirbt die Amöbe unter dem Deckglase ab, so wird sie zunächst unbeweglich, bleibt aber noch ungefärbt. Plötzlich verliert sie dann ihre starke Refraktion und zugleich wird sie schwach, nachher stärker, rot gefärbt. Der Kern färbt sich dabei am intensivsten und wird nicht selten aus dem Protoplasma ausgestoßen. Nach der Auflösung des Plasmas, das schnell nach dem Tode der Amöbe erfolgt, bleibt dann nur der Kern als einziger Ueberrest zurück. Solch spontanes Absterben beobachtet man an den viel resistenteren Cysten nicht so leicht. Wenn man sie aber, in der Eosinlösung liegend, durch Aufkochen oder mit absolutem Alkohol abtötet, so färben sie sich sogleich. Dabei beobachtet man, daß das Plasma der toten Cysten grobkörnig wird und daß es sich von der Cystenwand zurückzieht. Wir haben also in der Eosinfärbung ein scharfes Reagens zur Konstatierung des Todes bei den Cysten.

Nach der Beschreibung dieser Vorversuche schreiten wir nun zu jener der Einflüsse äußerer Faktoren auf die Cysten; hierbei betrachten wir also jene Cysten als tot, die sich mit verdünnter Eosinlösung färben, als lebend jene, die völlig ungefärbt bleiben (Einwirkungsdauer mindestens $\frac{1}{2}$ Stunde).

Sublimat 1:1000 tötet die Cysten erst nach 4 Stunden alle ab, Creolin 1:250 tötet die meisten in wenigen (5–10) Minuten. 50-proz. Alkohol und kochendes Wasser töten die Cysten momentan, ebenso Schaudinn's Sublimatalkohol. Formalin (10-proz.), welches nur für wenige Minuten einwirkt, tötet die Cysten nicht ab¹⁾.

Gegen Austrocknung sind die Cysten wenig resistent. In Material, das nur wenige Minuten lufttrocken wurde, sind die Cysten geschrumpft, sie färben sich rot mit Eosin, und nachträgliches Aufweichen in Wasser ändert an dem Zustande nichts. Von Cysten, die unter einer Wasserschicht von 7 cm Dicke in Glasröhrchen aufbewahrt, der Einwirkung der Sonnenstrahlen ausgesetzt wurden, starben in 7 Stunden 50 Proz. (35 von 70), das umgebende Wasser war dabei nicht wärmer als 36° geworden. Wurde aber das Cystenmaterial ohne schützende Wasserschicht von der Sonne bestrahlt, so waren alle Cysten schon nach 3 Stunden abgetötet, obwohl keine Eintrocknung eintrat. Zuletzt wurden cystenhaltige Faeces in Glasröhrchen in einer Eis-Salzmischung einige Stunden eingefroren und nachher wieder aufgetaut. Von 50 dieser Cysten waren nur 13 abgestorben. Ein- und zweikernige Cysten von *E. tetragena* wurden aufbewahrt in den sie enthaltenden Faeces bei Zimmertemperatur (27–30°) und im Brutschrank (37°); außerdem wurde ein Teil der Cysten durch wiederholtes Auswaschen und Zentrifugieren soviel als möglich von den Fäkalmassen befreit und in Brunnenwasser aufgeschwemmt aufbewahrt. In den bei 37° aufbewahrten Faeces waren nach 3 Tagen überhaupt keine Cysten mehr nachzuweisen. In den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Faeces waren nach 3 Tagen alle Cysten noch lebendig, nach 4 Tagen waren 26 von 51 Cysten schon gestorben, nach 9 Tagen waren alle Cysten verschwunden.

1) Die guten Erfolge einer Kalomelkur bei chronischer Amoebiasis (Cystenträger) veranlaßte uns, den Einfluß dieser Substanz auf die Cysten zu studieren. Wir mischten dazu cystenhaltige Faeces mit etwas Kalomel und untersuchten diese Mischung nach verschiedenen Zeitabschnitten. Nach 3 Stunden war etwa die Hälfte der Cysten abgestorben.

Von den in Wasser aufgeschwemmten Cysten lebten nach 3 Tagen noch alle, nach 4 Tagen noch 47 von 50, ebenso nach 9 Tagen. Dann trat enormes Bakterienwachstum auf, das die Cysten schnell abtötete, so daß nach 13 Tagen kaum noch einige lebendige Cysten zu finden waren.

Der Einfluß der Bakterienüberwucherung zeigt sich auch sehr deutlich im nächsten Beispiel: Die in den Faeces enthaltenen Cysten wurden in der oben angegebenen Weise gewaschen und in Wasser in zwei Spitzgläsern aufbewahrt.

In Glas A waren nach 6 Tagen von 50 Cysten 0 gestorben
 " 7 " " 52 " 12 "
 " 16 " " 50 " 50 "

In den letzten Tagen war in diesem Glase starker Bakterienwuchs aufgetreten.

In Glas B, wo für die Bakterien offenbar weniger günstige Bedingungen herrschten, waren:

nach 6 Tagen von 50 Cysten 0 gestorben
 " 12 " " 50 " 3 "
 " 16 " " 51 " 5 "
 " 21 " " 50 " 11 "

Nach 29 Tagen waren nur noch wenige lebendige Cysten vorhanden.

Wir ersehen also, daß die von uns untersuchten Cysten sehr lange (bis zu 4 Wochen) außerhalb des menschlichen Körpers am Leben bleiben können, wenn sie a) nicht in den entleerten Faeces verbleiben, sondern ausgespült werden, was in der Natur wohl durch Regen erfolgen mag; b) wenn sie nicht dem direkten Sonnenschein und der Austrocknung ausgesetzt sind. Solche Bedingungen können sich in der Natur öfters vorfinden, wenn die Cysten von dem Regenwasser in schattige Tümpel und kleine Bäche gespült werden. Die geringe Resistenz gegen Austrocknung macht es andererseits unwahrscheinlich, daß an Kleidungsstücken etc. angetrocknetes oder im Luftstaube befindliches cystenhaltiges Material die Infektion übermitteln kann.

Die geringe Resistenz gegen Austrocknung macht es auch unwahrscheinlich, daß Fliegen bei der Uebertragung der Cysten eine Rolle spielen. Doch erschien uns dieser Punkt so wichtig, daß wir darüber noch einige Untersuchungen angestellt haben.

1. Es wurden cystenhaltige Faeces, die ungefähr 500 Cysten pro Platinöse enthielten, in ein Reagenzröhrchen getan und dazu dann 10 Hausfliegen (*Musca domestica*) zugelassen. Nach einer Stunde war ein Teil der Fliegen in den Faeces ertrunken, ein anderer Teil lebte noch, die Fliegen hatten sich aber so stark beschmutzt, daß sie nicht mehr fliegen konnten. Die toten Fliegen wurden von den sie gänzlich einhüllenden Faecesteilen durch einmaliges Spülen befreit, so daß sie wieder rein aussahen, und nun wurde durch gründliches Reinigen der Pfoten, Flügel und des Rumpfes nachgesehen, wie viele Cysten zwischen den Haaren festgehalten wurden. Auf einer Fliege wurden so 25 lebende Cysten gefunden nebst 2 toten Cysten; auf der zweiten fanden wir 41 lebende Cysten und auf der dritten 41 lebende und 3 tote Cysten. Wenn man in Betracht zieht, daß die Faeces 500 Cysten pro Oese enthielten, so zeigt sich, daß, selbst bei enormer Verunreinigung, die Fliegen an ihrer Oberfläche nur sehr wenige Cysten verschleppen können.

Der Darm dieser Fliegen enthielt keine lebenden Cysten. Ob auch tote Cysten da waren, konnte nicht festgestellt werden, da im Darne viele,

mit Eosin sich rot färbende, kugelförmige Gebilde vorhanden sind, die von toten Cysten nicht zu unterscheiden sind.

2. Die lebenden, stark mit Faeces beschmutzten Fliegen wurden sich selbst während einiger Stunden überlassen, in welcher Zeit sie sich etwas erholten und reinigten. Dann wurden sie getötet und unter dem Mikroskope in der oben angegebenen Weise gereinigt. Auf einer Fliege wurden 27, auf einer zweiten 52 Cysten gefunden. Alle diese Cysten färbten sich mit Eosin rot und waren geschrumpft. Man wird uns entgegenhalten, daß wir die Fliegen sogleich hätten untersuchen müssen, bevor die an ihnen klebenden Cysten eingetrocknet waren; demgegenüber ist aber zu bemerken, daß die Fliegen nur dann Cysten übertragen können, wenn sie fliegend, oder jedenfalls herumkriechend sich bewegen können, und das war erst der Fall, als sie sich getrocknet hatten. Auch hier, wo die Fliegen nur der natürlichen Reinigung überlassen waren, hatten sich nur wenige Cysten an ihrer Haut festgeklebt.

Im Darne wurden keine lebendigen Cysten aufgefunden.

3. In den oben erörterten Versuchen waren die Fliegen stark mit cystenhaltigem Material beschmutzt, und zwar in einer Weise, wie es in der Wirklichkeit kaum vorkommen wird. Folgender Versuch schließt sich mehr den natürlichen Verhältnissen an:

Zehn Fliegen wurden in einen Käfig zusammen gebracht, der ein Schälchen mit cystenhaltigen Faeces (500 lebende Cysten pro Oese) enthielt. Daneben wurden auch Bananen, die mit denselben Faeces stark beschmutzt waren, dargereicht. Nach 48 Stunden (die Faeces enthielten jetzt noch 400 lebende Cysten pro Oese) wurden die Fliegen getötet und gründlich gereinigt. Es wurden aber keine Cysten gefunden. Auch im Darne fanden sie sich nicht. Es sei dazu noch bemerkt, daß während der 48 Stunden die Fliegen sich häufig auf die Faeces und die Bananen setzten.

Wir sehen also, daß die Cysten in geringer Zahl am Fliegenleibe haften bleiben, wenn ungewöhnlich starke Beschmutzung mit Faeces stattfindet. Sind die Fliegen so stark beschmutzt, dann können sie nur langsam herumkriechen. Erst wenn sie sich getrocknet haben, können sie sich wiederum schneller bewegen, dann sind die Cysten aber schon abgestorben. Unter natürlichen Verhältnissen (wenn die Insekten sich auf die Faeces setzen und nachher wieder davonfliegen) werden keine Cysten verschleppt, oder jedenfalls so wenige, daß sie nicht beobachtet wurden. In keinem Fall war es möglich, lebende Cysten im Darne nachzuweisen.

Wir glauben, daß die Uebertragung lebender Cysten durch Fliegen nur unter außerordentlich günstigen Bedingungen (etwa bei größter Unreinlichkeit) auf kurzen Abstand erfolgen kann. Selbst wenn eine solche Uebertragung einmal vorkommen sollte, so kommt sie doch für die Praxis gar nicht in Betracht.

Zuletzt wäre noch die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß die Cysten im Freien auskeimen und die Amöben eine Entwicklung außerhalb des Darmes durchmachen. Bei dem Aufbewahren der Cysten haben wir aber niemals irgendwelche Weiterentwicklung beobachtet, auch dann nicht, wenn die Cysten auf nährstoffhaltigen Medien unter aeroben oder anaeroben Bedingungen bei Zimmertemperatur und bei 37° aufbewahrt wurden. Zwar zeigte sich oft eine reichliche Entwicklung von Amöben, aber diese konnten immer als *Limax*-Amöben diagnostiziert werden, die sich auch im Material entwickelten, wo überhaupt keine Entamöben-

cysten vorhanden waren. Darling behauptet (1912), daß die Cysten von *E. tetragena* beim Aufbewahren in den entleerten Faeces kleine Amöben produzieren, nach 6 Tagen seien fast alle Cysten ausgekeimt. Dieses stimmt insofern mit unserer Beobachtung überein, als die Cysten tatsächlich aus den Faeces verschwinden. Daß dabei aber keine Keimung stattfindet, beweist die Tatsache, daß das Protoplasma innerhalb der Cystenwand einfach abstirbt und daß man das Verschwinden der Cysten längere Zeit hinausschieben kann, wenn man sie nur in ein günstigeres Medium (reines Wasser, statt faulende Faeces) bringt.

Rogers erwähnt in seiner bekannten Arbeit (1912) über die Wirkung des Emetins auf die Amoebiasis, daß die vegetativen Stadien der Darmamöben in einer Emetinlösung von 1:10000 momentan, in einer von 1:100000 in wenigen Minuten abgetötet werden, eine Beobachtung, die schon vorher von Vedder (1912) gemacht wurde.

Es war von Interesse, mit Hilfe der beschriebenen Eosinfärbungsmethode die Einwirkung des Emetins auf die verschiedenen Stadien der *E. tetragena* zu prüfen, da das Emetin in den Händen der Praktiker in Deli eine wechselnde, oft gänzlich ungenügende Wirkung zeigte. Dabei waren nicht nur Cysten gegenüber Amöben, sondern auch die verschiedenen Stadien der Amöben (*Histolytica*- und *Minuta*-Stadium) unter sich einer vergleichenden Resistenzprüfung zu unterziehen, da es uns beim Aufbewahren der amöbenhaltigen Faeces schon aufgefallen war, daß nur die *Histolytica*-Form bald (nach wenigen Stunden) abstirbt, in Uebereinstimmung mit den gewöhnlichen Erfahrungen, während die Amöben im *Minuta*-Stadium in dieser Beziehung viel resistenter und nach 24 Stunden noch zum Teil am Leben waren.

Die *Histolytica*-Formen aus den frisch entleerten Faeces wurden in einer Emetinlösung von 1:10000¹⁾ nach einer Stunde sämtlich abgetötet. In den während 7 Stunden aufbewahrten Faeces, wo die Amöben also schon geschwächt sind, tötet sie die Emetinlösung schon nach wenigen Minuten. In einem anderen Falle wurden aber auch die frisch entleerten Amöben mit Emetinlösung von 1:10000 in wenigen Minuten abgetötet. Wir haben dazu noch zu bemerken, daß das Eintreten des Todes nicht am Sistieren der Bewegung, sondern am Eindringen des Eosins mit den damit einhergehenden Aenderungen (plötzlichem Verlust des Lichtbrechungsvermögens, oft auch Ausstoßen des Kernes) erkannt wurde. Dadurch ist vielleicht der Unterschied von Rogers und unserer Angabe über die Schnelligkeit des Todes bei Emetineinwirkung zu erklären.

Die *Minuta*-Formen sind resistenter: Nach $\frac{3}{4}$ -stündiger Einwirkung einer Emetinlösung von 1:10000 waren die Amöben teilweise noch beweglich, nach 3 Stunden war dieses aber nicht mehr der Fall; es waren aber noch viele Amöben zu finden, welche das Eosin noch nicht aufgenommen hatten. Nach 24 Stunden waren aber keine lebendigen Amöben mehr zu finden. In einem anderen Falle waren die *Minuta*-Formen in einer Emetinlösung von 1:5000 nach 4 Stunden teilweise noch beweglich; nach 24 und selbst nach 48 Stunden gab es noch einige ungefärbte Amöben. Dem Emetin gegenüber erwiesen sich also die *Minuta*-Formen kaum weniger resistent wie die Cysten (siehe unten).

Die vom Emetin bedingten prämortalen Veränderungen der Amöben haben nichts Spezifisches, es sind dieselben, welche man an degenerie-

1) Es wurde Hydrochloras emetini von Burrough and Wellcome verwendet.

renden Amöben (im aufbewahrten Stuhl, im Katzendarme etc.) findet, nämlich starke Vakuolisierung, die den Amöbenleib in eine fast unkenbare Schaummasse umwandelt, und Verklumpung des Chromatins im Kerne (Textfig. XIII, XIV). Die jodophile Substanz verschwindet dabei, die Vakuolen enthalten sie nicht, sie sind also von den in den Cysten auftretenden Vakuolen verschieden. Die Verklumpung des Chromatins geht derartig vor sich, daß einzelne große Chromatinbrocken gebildet werden, welche nach dem Verschwinden der Kernmembran durch das Plasma zerstreut werden, wobei die Amöbe ein scheinbar vielkerniges Aussehen erlangt.

Es wurden 2-kernige Cysten von *E. tetragena* (Fall Sutowikromo) 24 Stunden nach der Entleerung mit Emetin in einer Lösung von 1:10000 behandelt.

Es waren nach 10 Minuten von 53 Cysten	4	abgestorben,
„ $\frac{3}{4}$ Stunde „ 51	19	„
„ 3 Stunden „ 58	20	„
„ 24 „ „ 51	12	„

In einem anderen Fall waren

bei Emetinlösung $\frac{1}{100}$ nach $\frac{1}{2}$ Stunde von 57 Cysten	44	abgestorben,
„ „ $\frac{1}{1000}$ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55	34	„
„ „ $\frac{1}{10000}$ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50	37	„

Es zeigt sich also, daß die Cysten gegen Emetin sehr resistent sind, selbst gegen Konzentrationen, welche das 10- und 100-fache der von Rogers angegebenen Verdünnung darstellen.

Es sind somit bei den gewöhnlichen therapeutischen Dosen eigentlich nur die *Histolytica*-Formen der Dysenterieamöben der Emetin-einwirkung zugänglich.

Die *Minuta*-Formen und Cysten produzierenden Dauerausscheider von ihren Parasiten mit einer Emetinkur zu befreien, muß also von vornherein aussichtslos erscheinen. Wir selbst beobachteten einen solchen Träger, der wegen Erscheinungen eines in Entwicklung begriffenen Leberabszesses einer intensiven Emetinkur unterzogen wurde, aber trotzdem am Ende der Kur noch ebenso viele Cysten und *Minuta*-Formen entleerte, wie im Anfang.

VII. Zusammenfassung.

In Deli haben wir nur zwei *Entamoeba*-Arten beim Menschen unterscheiden können, nämlich *Entamoeba coli* und *Entamoeba tetragena*.

Entamoeba coli hat keine primäre pathogene Bedeutung. Es kommt bisweilen zur lebhaften Vermehrung der *Entamoeba coli* im Dickdarm, speziell bei Durchfällen, welche auf irgendwelche andere Ursache zurückzuführen sind; es ist schwer, zu entscheiden, ob sie in solchen Fällen eine sekundäre, schädliche Wirkung ausüben kann. Bei der Ätiologie der durch die pathologische Anatomie genau charakterisierten tropischen Dysenterie spielt sie überhaupt keine Rolle.

Entamoeba tetragena ist die spezifische Dysenterieamöbe. Wir unterscheiden in ihrem Lebenszyklus drei Stadien, das *Histolytica*-Stadium, das *Minuta*-Stadium und das Cystenstadium. Im ersten Stadium ist die Amöbe ein Gewebeparasit und findet sich in den Geschwüren des Darmes und in den Wänden der Abszesse der Leber und anderer Organe. Im *Minuta*-Stadium, zu dem es in einem Bruchteil der Fälle kommt, wird sie in fäkulenten Stühlen vorgefunden und stellt die saprozoische Phase der *E. tetragena* dar; sie kann sowohl gefunden

werden, wenn noch Reizerscheinungen von der Seite des Darmes vorhanden sind, als auch in ganz normalen Stühlen von anscheinend gesunden Personen¹⁾. Das dritte, das Cystenstadium, tritt meistens zusammen mit dem Minuta-Stadium auf; die Cysten besorgen die Verbreitung der Art. Das Auffinden von Amöben und deren Cysten bei gesunden oder scheinbar gesunden Personen soll also nicht zu der kritiklosen Angabe Veranlassung geben, daß alle im Darne des Menschen gefundenen Amöben pathogen sind (wie z. B. bei Allen, 1910). Bei unserer vertieften Einsicht in die Morphologie der Entamoeben des Menschen ist es jetzt möglich, zwischen *Entamoeba coli* und *Entamoeba tetragena* die Differentialdiagnose zu stellen, und da, wo jetzt bei Fällen von larvierter Dysenterie *Entamoeba tetragena* gefunden wird, zeigt es sich nur, daß wir es auch bei der Amoebiasis wie bei so vielen anderen Protozoosen mit einem Persistieren der Infektion weit über die Dauer der Krankheitserscheinungen hinaus zu tun haben.

In den meisten Fällen von Amoebiasis verharrt die *Amoeba tetragena* auf dem Histolytica-Stadium und es treten keine anderen Formen auf. Diese Fälle führen bisweilen zum Tode, oft zur Heilung, aber sie können auch einen sehr chronischen Verlauf nehmen und jeder Therapie trotzen; es können die dysenterischen Erscheinungen Monate, selbst Jahre anhalten, meistens aber treten kürzere oder längere Zeiten scheinbarer Genesung ein, und es zeigt sich die chronische Infektion unter dem Bilde echter Rezidive. In den Pausen zwischen den Anfällen findet man in den Stühlen weder Amöben noch Cysten. Die Amöben leben dann irgendwo versteckt in kleiner Zahl weiter. Die Histolytica-Formen sind sehr wenig resistent gegen Emetin; in der Mehrzahl der Fälle verschwinden die Amöben bei der Emetinbehandlung schnell aus den Faeces; Rezidive bleiben aber immer möglich. Auch gibt es Fälle, welche überhaupt nicht auf Emetin reagieren; die Ursache ist unbekannt. Theoretisch bilden die Fälle, wo nur Histolytica-Formen auftreten, keine Gefahr für die Verbreitung der Amoebiasis; da aber immer der Uebergang zum Minuta- und Cystenstadium plötzlich einsetzen kann, behandle man auch solche Patienten als infektiös.

Das Minuta-Stadium kann im Verlaufe einer Amoebiasis in jedem Moment auftreten. Meistens finden sich diese Formen in den flüssigen oder halbfesten Stühlen der Rekonvaleszenten. Da aber dieses Stadium sich wieder in das Histolytica-Stadium zurückbilden kann, sind die Minuta-Formenträger immer einem Rezidiv ihrer Dysenterie ausgesetzt. Nach der anderen Seite bilden sich aus den Minuta-Formen die Cysten, und der Minuta-Träger kann kürzere oder längere Zeit ganz normal sein und normalen Stuhl entleeren. Bei dieser Form chronischer Dysenterie findet man also bei den Exazerbationen nur Histolytica-Formen, oder solche mit Minuta-Formen kombiniert, in den Pausen zwischen den Rezidiven Minuta-Formen mit Cysten oder Cysten allein. Es können auch dabei Anfälle auftreten, bei welchen man sehr große Quantitäten von Minuta-Formen und Cysten im Stuhle findet; dem dünnflüssigen Stuhle ist mehr oder weniger Schleim ohne Blut beigemischt; das ganze Bild ist mehr das einer Enteritis, wie das einer Dysenterie. Da das Histolytica-Stadium entweder symptomlos ver-

1) Seit Abschluß dieser Arbeit untersuchten wir noch den Stuhl einer Europäerin, die angeblich nie an Dysenterie erkrankt war und gänzlich normale Faeces entleerte. Im Stuhle fanden sich während 2 Wochen massenhaft typische 1-, 2- und 4-kernige Cysten von *E. tetragena* und auch Minutaamöben.

laufen kann, oder vielleicht einmal gar nicht zur Ausbildung gelangt, so kann eine akute Enteritis mit massenhaften kleinen Amöben und Cysten im Stuhle die erste Erscheinung einer Amoebiasis sein (Fall 3).

Durch die ziemlich große Resistenz der Minuta-Formen äußeren Einflüssen gegenüber sind sie vollkommen befähigt, die Existenz der Art im Darne zu sichern. In dieser Beziehung wären sie mit den weiblichen Gametocyten der Malariaparasiten zu vergleichen. Auch dem Emetin gegenüber sind sie resistenter, wie die Histolytica-Formen; es kommt noch dazu, daß die Minuta-Formen, die im Darminhalte leben, der Wirkung des im Blute aufgenommenen Alkaloids kaum zugänglich sind. Es ist darum ganz aussichtslos, die Minuta-Formen-träger mit Emetin von ihren Amöben befreien zu wollen. Gegen echte Rezidive aber kann es wiederum sehr wirksam sein.

Man sieht öfters die Minuta-Formen und Cysten nach kürzerer oder längerer Zeit aus dem Stuhle verschwinden; es schwankt diese Zeit von einigen Tagen bis zu mehreren Jahren; wodurch dieses Verschwinden bedingt wird, ist zurzeit nicht anzugeben. Auch sind therapeutische Maßnahmen, welche dieses Verschwinden fördern sollen, unbekannt.

Das Cystenstadium ist meistens schon mit dem Minuta-Stadium kombiniert. Es kommt aber vor, daß man im Stuhle nur Cysten und keine Minuta-Formen mehr auffinden kann. Ob die Cysten bei einer Exazerbation eine Rolle spielen, d. h. ob sie im Darne, wo sie gebildet werden, auch auskeimen, wissen wir nicht. Sicher aber dienen sie der Verbreitung der Art, denn außerhalb des Darmes erweisen sie sich viel resistenter, als die Minuta-Formen. Daß man durch Verfütterung von Cysten empfängliche Tiere infizieren kann, ist schon öfters, auch von uns¹⁾, gezeigt worden.

In den faulenden Faeces bleiben die Cysten nur einige Tage am Leben; werden sie aber ausgespült, dann erhalten sie sich viel länger lebensfähig. Uebertragung durch direkten Kontakt mit Cystenträgern ist also möglich, doch muß man sich dann mit noch feuchtem Materiale infizieren, da die Cysten das Austrocknen nicht ertragen. Auch eine Infektion mit cystenhaltigen Faeces wäre möglich. Von besonderem Belang aber muß die Infektion mit Wasser sein, da sich die ausgespülten Cysten im reinen Wasser wochenlang am Leben erhalten. Da, wo die Leute ihre Faeces im Freien oder im Wasser zu deponieren gewohnt sind, sind Tümpel und die kleineren Wasserläufe, in denen das Regenwasser zusammenfließt, besonders gefährlich.

Immer sind es die Träger der Cysten, welche direkt oder indirekt die Neuinfektion verursachen, denn es liegt bis jetzt keine Veranlassung vor, eine Entwicklung der *Entamoeba tetragena* außerhalb des menschlichen Körpers anzunehmen. Die Cystenträger bilden also die größte und wahrscheinlich die einzige Gefahr.

Die hier erörterten Ansichten, die wir durch eigene Beobachtungen gewannen, sind schon mehr oder weniger deutlich von anderen Forschern ausgesprochen (Musgrave 1910, Vincent 1909, Martini 1908, Darling 1912) worden. Man würde also zur Verhütung der Amöbendysenterie zunächst die Cystenträger (und auch die Amöbenträger, weil sie Cystenträger werden können) aufsuchen und isolieren müssen. Da aber die Cystenträger vielfach gesund und arbeitsfähig sind, und es

1) Im ganzen wurden von uns 5 Katzen mit Cysten per os infiziert. Zwei starben an typischer Amöbendysenterie.

Wochen, ja Monate dauern kann, bis sie von ihren Cysten befreit sind, wird eine Isolierung praktisch nicht durchzuführen sein.

Durch geeignete Vorrichtungen zur Abfuhr der Fäkalien und durch gute Trinkwasserversorgung kann man die Chancen, daß die Träger andere infizieren, um vieles verringern. Aber es werden eben da, wo die Gelegenheit zu Neuinfektionen am meisten gegeben ist, nämlich unter den Feldarbeitern, welche, wie hier in Deli, weit von ihren Häusern den ganzen Tag in der heißen Sonne arbeiten, auch diese prophylaktischen Vorrichtungen nicht aushelfen; kein Arbeiter im Freien denkt daran, nach Hause zu gehen, um die Latrine zu benützen, und bei dem starken Schwitzen ist jedes Wasser ihm lieber, als das gute Trinkwasser, das vielfach erst in größeren Entfernungen zu haben ist. Da ist nur eines möglich: man muß den Leuten während der Arbeit Getränke, am liebsten Tee, in das Feld nachtragen lassen, eine prophylaktische Maßnahme, die von Schüffner schon lange durchgeführt wurde.

Zum Schlusse sei es uns erlaubt, Herrn Dr. W. Schüffner für seine ständigen Anregungen und Unterstützungen bei der Arbeit unseren besten Dank abzustatten; ebenso Herrn Dr. Graham, der uns oft wertvolles Cystenmaterial beschaffte.

Medan, 20. Juni 1913.

Nachtrag bei der Korrektur.

Seit dem Abschluß dieser Arbeit ist die interessante Mitteilung Baermanns und Heinemanns, Die Behandlung der Amöbendysenterie mit Emetin (Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 21, 22) erschienen. Leider konnte diese Arbeit nicht mehr berücksichtigt werden.

Literatur¹⁾.

- Allan, Studies in amebiasis. (Med. Record. Vol. 77. 1910. No. 26.)
 Bell, A new parasite seen in a case of dysentery. (Lancet. 1909.)
 Chatton, Entamibe et myxomycètes d'un singe. (Bull. Soc. Pathol. exot. T. 5. 1912. p. 180.)
 Chatton et Lalung-Bonnaire, Amibe Limax dans l'intestin humain. (Bull. Soc. Pathol. exot. T. 5. 1912. p. 135.)
 Darling, The examination of stools for cysts of *Entamoeba tetragena*. (Journ. of tropic. Med. and Hyg. Vol. 15. 1912. p. 257.)
 Elmassian, Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme: *Entamoeba minuta* n. sp. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 335.)
 Gauducheau, Culture d'une amibe dysentérique. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 64. 1908. p. 493.)
 —, Researches in the multiplication of the Entamoebae. (Journ. of tropic. Med. and Hyg. Vol. 15. 1912. p. 313.)
 Greig and Wells, Dysentery and liver-abscess in Bombay. (Scientif. Memoires by Officers of the Med. and Sanit. Departm. of the Governm. of India. New Ser. No. 47. 1911.)
 Hartmann, Die Dysenterie-Amöben. (Prowazeks Handbuch d. pathogen. Protozoen. Bd. 1. 1911. p. 50.)
 —, Untersuchungen über parasitische Amöben. II. *Entamoeba tetragena*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 24. 1912. p. 163.)
 — u. Withmore, Untersuchungen über parasitische Amöben. III. *Entamoeba coli*. (Ibid. Bd. 24. 1912. p. 182.)
 Koidzumi, On a new parasitic amoeba, *Entamoeba nipponica*, found in the intestine of a Japanese. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 650.)
 Kuenen, Die Aetiologie und Diagnose der Amoebiasis. (Janus. Bd. 13. 1909. p. 1.)
 —, Die pathologische Anatomie der Amoebiasis. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 13. Beih. No. 7. 1909.)

1) Für ältere Literatur cf. Hartmann, Kuenen, Schaudinn, Werner.

- Lesage, Note sur les Entamibes dans la dysenterie amibienne des pays chauds. (Bull. Soc. pathol. exot. T. 1. 1908. p. 104.)
- Martini, Amöbenträger. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. 1908. p. 588.)
- Musgrave and Clegg, The cultivation and pathogenesis of amoebae. (Philipp. Journ. of Scienc. Vol. 1. 1906. p. 909.)
- Musgrave, Intestinal amebiasis without diarrhoea. A study of fifty fatal cases. (Ibid. Ser. B. Vol. 5. 1910. p. 229.)
- Nägler, Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. (Arch. f. Protistenk. Bd. 15. 1909. p. 1.)
- Noc, Recherches sur la dysenterie amibienne en Cochinchine. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 23. 1909. p. 177.)
- Ornstein, Zur Aetiologie der Amöbenruhr. (Arch. f. Protistenk. Bd. 29. 1913. p. 78.)
- Prowazek, Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. (Arbeit. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 21. 1904.)
- , Beitrag zur Entamoeba-Frage. (Arch. f. Protistenk. Bd. 22. 1911. p. 344.)
- , Weiterer Beitrag zur Kenntnis der Entamöben. (Ibid. Bd. 26. 1912. p. 241.)
- Rogers, The rapid cure of amoebic dysentery and hepatitis by hypodermic injections of soluble salts of emetine. (Brit. med. Journ. No. 2686. 1912. p. 1424.)
- Schaudinn, Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 19. 1913. p. 547.)
- Schöffner u. Kuenen, Die gesundheitlichen Verhältnisse des Arbeiterstandes der Senembah-Gesellschaft auf Sumatra während der Jahre 1897—1907. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. p. 167.)
- Swellengrebel, Notiz über eine neue freilebende Amöbe. (Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910. p. 167.)
- Vedder, An experimental study of the action of ipecacuanha on amoebae. (Journ. of trop. Med. and Hyg. Vol. 15. 1912. p. 313.)
- Viereck, Studien über die in den Tropen erworbene Dysenterie. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 11. 1907. Beih. No. 1.)
- Vincent, Note sur la latence prolongée de l'amibe dysentérique dans l'intestin humain. Les porteurs d'amibes. (Bull. Soc. de pathol. exot. T. 2. 1909. No. 2.)
- Walker, The parasitic amebae of the intestinal tract of man and other animals. (Journ. of med. Research. Vol. 12. 1908. p. 379.)
- , A comparative study of the amoebae in the Manila water-supply, in the intestinal tract of healthy persons and in amoebic dysentery. (Philipp. Journ. of Scienc. Ser. B. Vol. 6. 1911. p. 259.)
- Wenyon, Experimental amebic dysentery and liver absces in cats. (Journ. of the London School of trop. Med. No. 12. 1912.)
- Werner, Entamoeba coli. (Prowazeks Handb. d. pathogen. Protozoen. Bd. 1. 1911. p. 67.)

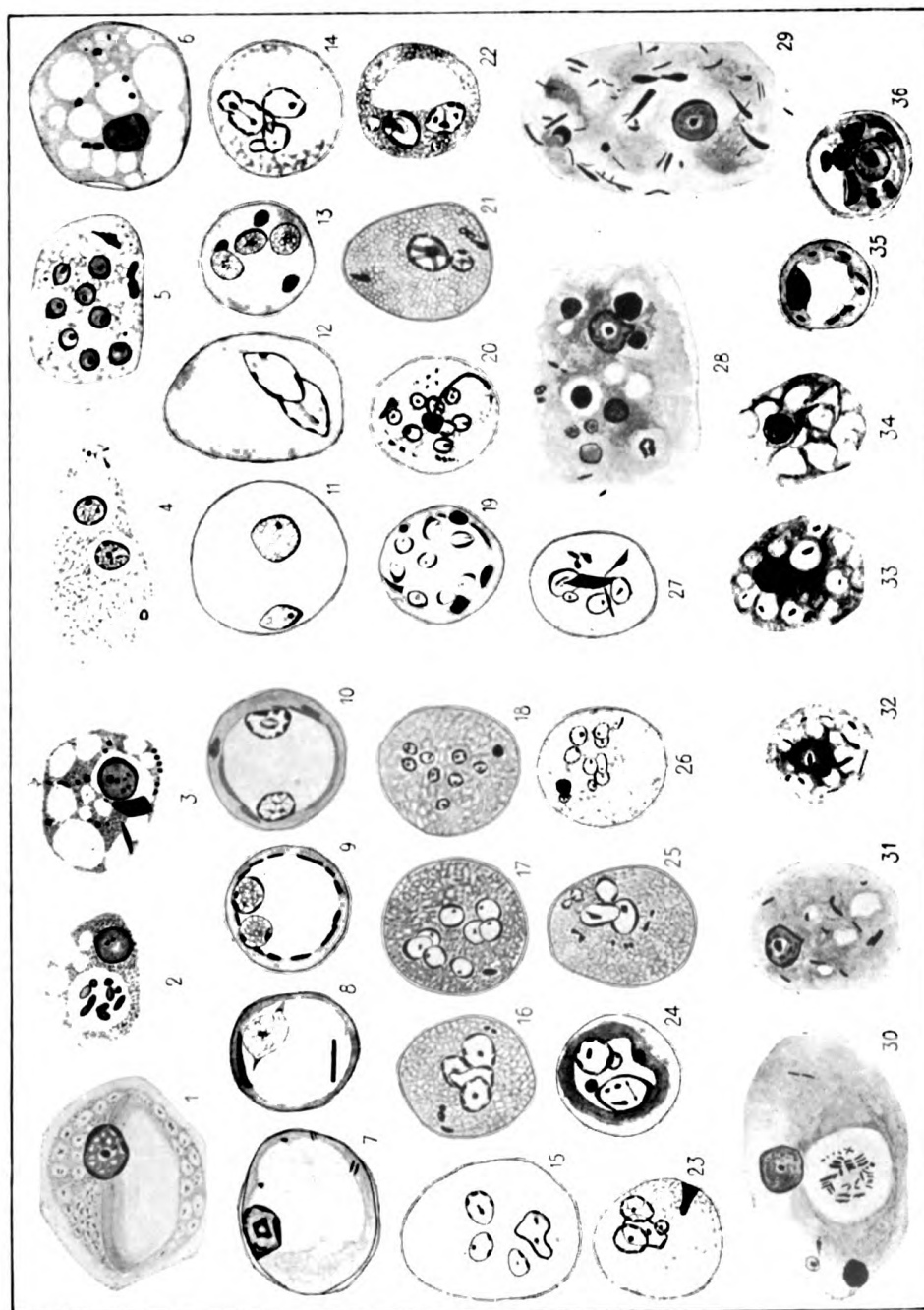
Erklärung der Tafeln.

Alle Figuren sind mit dem Zeiss'schen Zeichenapparat (Oelimmersion $\frac{1}{13}$ Komp.-Okular No. 12) angefertigt. Bei der Reproduktion wurden sie sodann auf $\frac{1}{8}$ verkleinert.

Tafel I.

Fig. 1—27. Entamoeba coli.

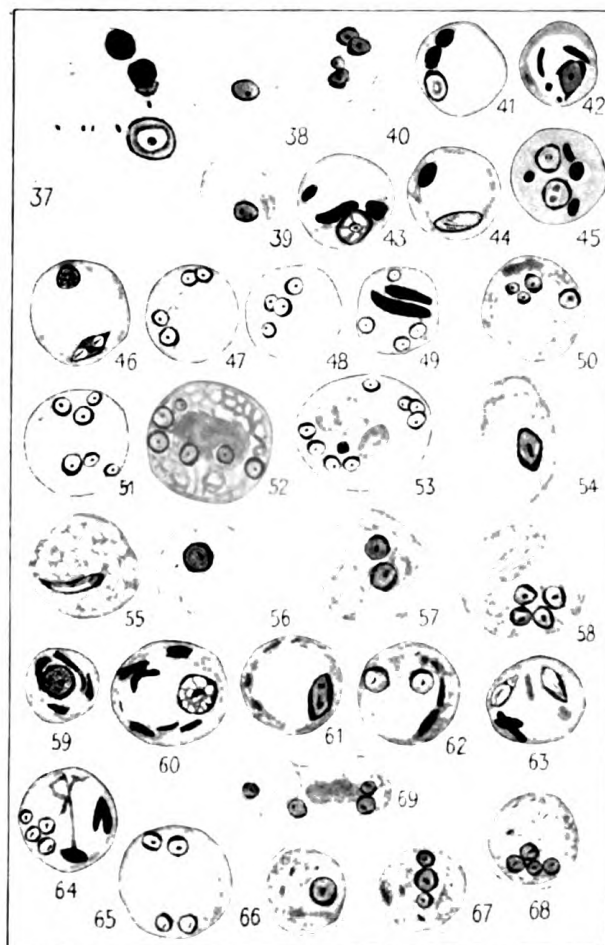
- Fig. 1—5. Vegetative Formen.
- Fig. 1. Einkernige Amöbe mit großem Stärkekorn.
- Fig. 2. Dgl. mit bakterienhaltiger Vakuole.
- Fig. 3. Dgl. mit kristallartigen Chromidien.
- Fig. 4. Zweikernige Amöbe.
- Fig. 5. Achtkernige Amöbe.
- Fig. 6—20. Cystenbildung.
- Fig. 6. Einkernige Cyste, noch ohne große zentrale Vakuole. Cystenwand schon ausgebildet.
- Fig. 7. Dgl. mit zentraler Vakuole, in Ausbildung begriffen.
- Fig. 8. Dgl., Kern im Spindelstadium der Teilung. Anfang der Chromidienbildung.
- Fig. 9. Zweikernige Cyste; ausgebildete zentrale Vakuole. Kerne noch dicht nebeneinander. Chromidien um die Vakuole herum gelagert.
- Fig. 10. Dgl. Kerne auseinandergerückt. Chromidien in Rückbildung begriffen.
- Fig. 11. Dgl. Ein Kern von oben, einer von der Seite gesehen.
- Fig. 12. Dgl. Beide Kerne im Spindelstadium der Teilung.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

- Fig. 13. Dreikernige Cyste. Vakuole in Rückbildung begriffen.
 Fig. 14. Dgl. Ein Kern in Teilung mit hantelförmigem Karyosom; zwei Nebenkern vorhanden.
 Fig. 15. Vierkernige Cyste mit in Rückbildung begriffener Vakuole. Ein Kern zeigt Andeutung heteropolarer Teilung.
 Fig. 16. Dgl. Zentrale Vakuole verschwunden.
 Fig. 17. Großkernige, achtkernige Cyste.
 Fig. 18. Kleinkernige, achtkernige Cyste.
 Fig. 19. Achtkernige Cyste mit zentraler Vakuole.
 Fig. 20. Dgl. mit verschiedenartigen Chromidien.
 Fig. 21–27. Bildung von Nebenkernen in den Cysten.
 Fig. 21. Einkernige Cyste mit einem Nebenkern.
 Fig. 22. Zweikernige Cyste mit drei Nebenkernen.
 Fig. 23. Dreikernige Cyste mit einem Nebenkern.
 Fig. 24. Zweikernige Cyste (ein Kern im Spindelstadium) mit einem Nebenkern.
 Fig. 25. Dreikernige Cyste mit zwei Nebenkernen.
 Fig. 26. Achtkernige Cyste mit zwei Nebenkernen.
 Fig. 27. Dreikernige Cyste mit einem Nebenkern und Splitterchromidien.

Fig. 28–36. Entamoeba tetragena. Fall No. 2.

- Fig. 28–31. Histolyticaformen (April 1910).
 Fig. 28. Amöbe mit Erythrocyten.
 Fig. 29. Amöbe mit Splitterchromidien und Chromatinkranz um das Karyosom.
 Fig. 30. Amöbe mit bakterienhaltiger Vakuole; Kern wie in Fig. 29.
 Fig. 31. Kleinere Amöbe. Kern wie in Fig. 29 u. 30. Stäbchenförmige Chromidien.
 Fig. 32. Uebergang zum Minutastadium (Mai 1910). Kern wie bei den Histolytica-Formen. Stäbchenförmige Chromidien. Protoplasma vakuolisiert.
 Fig. 33 u. 34. Minutaformen (Mai 1910), Kern ohne Chromatinbrocken im Kernsaft. Plasma stark vakuolisiert. Vakuolen teilweise mit Inhalt.
 Fig. 35. Einkernige Cyste (Mai 1910). Große, zentrale Vakuole, Chromidien. Kern mit Chromatin in der Kernsaftzone. Kern von der Seite gesehen.
 Fig. 36. Dgl. Zentrale Vakuole schwindend. Chromidien noch mächtig ausgebildet. Kern von oben gesehen.

Tafel II.

Fig. 37–53. Entamoeba tetragena. Fall No. 1.

- Fig. 37. Histolyticaform (26. März 1913). Kern mit Chromatinkranz um das Karyosom. Plasma mit Erythrocyten.
 Fig. 38–40. Minutastadien (28. März). Kern kleiner, wie in Fig. 37, ohne Chromatinkranz um das Karyosom. Plasma vakuolisiert. In Fig. 40 vierkerniges Stadium mit Stärkekorn als Einschluß des Protoplasmas.
 Fig. 41–53. Cystenbildung (28.–30. März 1913).
 Fig. 41. Einkernige Cyste mit zentraler Vakuole.
 Fig. 42. Bildung der Chromidien vom Kerne aus.
 Fig. 43. Wie Fig. 41. Der Kern hat sich vergrößert. Netzförmig ausgebildetes Chromatin in der Kernsaftzone.
 Fig. 44. Kernteilung.
 Fig. 45. Zweikernige Cyste.
 Fig. 46. Dgl. Einer der Kerne in Teilung.
 Fig. 47. Vierkernige Cyste. Cysten paarweise gelagert.
 Fig. 48. Dgl. Kerne in einem Haufen zusammen.
 Fig. 49. Dgl. Chromidien vorhanden.
 Fig. 50. Dgl. Zwei kleine und zwei große Kerne.
 Fig. 51. Sechskernige Cyste.
 Fig. 52. Dgl. Ein Kern viel kleiner wie die anderen.
 Fig. 53. Achtkernige Cyste.

Fig. 54–58. Entamoeba tetragena. Fall No. 3.

- Fig. 54–58. Minutastadien.
 Fig. 54. Deutliches Pseudopodium.
 Fig. 55. Kernteilung.
 Fig. 56. Plasma mit Stärkekorn.
 Fig. 57. Zweikerniges Stadium mit deutlichem Pseudopodium.
 Fig. 58. Vierkerniges Stadium mit Ektoplasmastrifen und zwei Stärkekörnern.

Fig. 59 u. 60. Cystenbildung.

Fig. 59. Bildung der Chromidien.

Fig. 60. Einkernige Cyste. Chromidien um die große, zentrale Vakuole. Großer Kern mit netzartig gebauter Chromatinmasse in der Kernsaftzone.

Fig. 61. Die Chromidien schwinden. Kern in Teilung. Spindelstadium mit geteiltem Karyosom.

Fig. 62. Zweikerniges Stadium mit schwindenden Chromidien und Vakuole.

Fig. 63. Dgl. Die beiden Kerne in Teilung.

Fig. 64. Vierkerniges Stadium. Die Kerne in einem Haufen zusammen. Chromidien und Vakuole noch nicht ganz verschwunden.

Fig. 65. Dgl., Kerne in zwei Paaren angeordnet. Chromidien verschwunden.

Fig. 66—68. Ein-, zwei- und vierkerniges Cystenstadium mit geschrumpftem Plasma; Cystenwand deutlich.

Fig. 69. *Entamoeba tetragena*. Fall No. 6. Plastische, vierkernige Cyste.*Nachdruck verboten.***Ein Fall von menschlicher Filaria-Infektion.**

[Aus dem Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin in St. Petersburg, Bakteriolog. Laboratorium.]

Von Dr. Nadine Schultz.

Mit 1 Figur im Text.

Da die Filaria-Infektionen in Europa selten zur ärztlichen Behandlung und Beobachtung kommen, so wird es vielleicht nicht ohne Interesse sein, wenn ich einen Fall, welchen ich diagnostizierte und seit Beginn der Krankheit, jetzt bald 3 Jahre, beobachtete und teilweise behandelt habe, hier beschreibe.

Ich muß aber im voraus erwähnen, daß die Beobachtungen dieser Kranken nicht nach allen Richtungen hin ausgeführt werden konnten, wie dies in den Kliniken getan wird, da die Verhältnisse dies nicht erlaubt haben. Zum Beispiel kann ich keine Temperaturkurven geben und kann auch nichts Bestimmtes über den Turnus dieser Filaria sagen.

Aber die Blutuntersuchungen wurden häufig wiederholt, die gut gelungenen Blutpräparate aufbewahrt und eine genaue Zeichnung einer unversehrten Filaria wird hier gegeben.

Durch Filaria loa bedingter Fall.

Meine Kranke ist bejährt und Doctor med.

Im August 1909 hat sie ungefähr 1 Monat im Süden gewohnt und hat einige Krankenhäuser und Laboratorien besucht, um die Malaria zu studieren und Malaria-präparate zu sammeln. Bei der Heimkehr war sie ganz gesund und ist bis Mitte April 1910 ganz wohl und munter gewesen.

Ungefähr um diese Zeit hat sie bemerkt, daß sie mit Filarien infiziert ist, da sie auf einmal ein ziemlich langes, zylindrisches, glattes, bewegliches, wurmartiges Wesen im rechten Auge spürte, das unter der Conjunctiva lag und sich hin und her bewegte.

Die Tiere haben zwar gar nicht ihre Augen gereizt, aber es war doch eine recht schwere und unangenehme Ueberraschung, da sie wußte, daß dieses Leiden nicht leicht zu beseitigen ist, und daß die Parasiten sich beständig weiter vermehren.

Ohne Zeitverlust wendete sie sich daher an einen tüchtigen Augenarzt, der sich aber für den Fall, wie es scheint, nicht besonders interessiert hat und eine 5-proz. Kollargollösung 3mal täglich verordnete. Selbstverständlich hat sie diese Tropfen nur gebraucht, so lange die Filarien in ihren Augen waren. Es erwies sich, daß diese Arznei die Filarien ziemlich schnell tötet, je nach der Größe des Tieres. Nach

dem Tode werden sie verflüssigt und aufgesaugt, oder im zertrümmerten Zustande aus den Augen eliminiert.

Das Kollargol übt in dieser Dosis eine sehr starke Wirkung auf die äußere Haut der Filarien aus; es tritt bei letzteren aus der Haut eine dichte Lage von feinen, kurzen Härchen — besser als Stachelchen zu bezeichnen — hervor, wie bei einer Bürste, welche sehr hart sind und die Conjunctiva stark stechen und reizen.

Ich bekam einmal ein Stückchen der äußeren Haut einer toten Filarie in die Hand, und habe mit Hilfe einer Lupe die dichten Härchen gut gesehen.

Glücklicherweise dauert dieses Stadium, in welchem die Stachelchen hervortreten, nicht sehr lange; aber es wiederholt sich dies bei jedem lebenden, gesunden Parasiten, welcher unter die Conjunctiva eintritt, und mit diesem Mittel getötet wird.

Im Anfange der Krankheit ließen sich häufig, besonders während der Nacht, Bewegungen der Filarien unter der Conjunctiva wahrnehmen. Die Filarien waren von verschiedener Größe und in größerer Zahl vorhanden. Die älteren Parasiten lagerten sich gewöhnlich im unteren Teil der unteren Lider ab, während sich die Mikrofilarien mit Hilfe ihrer Zähne an der Conjunctiva der oberen Lider fest angehaftet haben.

Diese Anhaftung an die Conjunctiva ist sehr lästig, wie jeder weiß, wie störend Fremkörper in den Augen sind.

Aber bald nachher lösten sie sich ab, ein sicherer Beweis, daß sie schon von der Arznei angegriffen waren, wurden verflüssigt und eliminiert.

Häufig war im Anfange der Krankheit die Patientin fast die ganze Nacht durch die Filarien belästigt. Die einen Filarien starben und wurden nach einiger Zeit eliminiert; frische Tiere traten aber bald wieder ein und ersetzten die toten.

Die Infektion mit Filarien wurde durch die Kranke selbst auf Grund der oben angeführten Symptome diagnostiziert.

Es zeigten sich zu dieser Zeit keine allgemeinen Beschwerden, kein Fieber, kein Unwohlsein; die Gesundheit schien ganz normal zu sein.

Da die Infektion nur im Süden geschehen konnte und bis zu den Erscheinungen im Auge 7—8 Monate verflossen sind, so wird man annehmen müssen, daß die Inkubationszeit (die Zeit, wo absolut nichts von den Filarien zu merken ist) 7—8 Monate dauert.

Während der subjektiven Empfindungen im Auge wurden mikroskopische Blutuntersuchungen gemacht. In den Blutpräparaten wurden Filarien von verschiedener Größe in bedeutender Zahl gefunden; man darf daher annehmen, daß die Filarien während der Inkubationszeit sich im Blute befinden und sich reichlich darin vermehren, ohne aber subjektive Empfindungen auszulösen.

Es muß also unbedingt angenommen werden, daß in diesem Falle vor allem das Blut infiziert worden ist. Die Erscheinungen in den Augen waren das erste fühlbare Zeichen der Anwesenheit der Parasiten im Organismus und der erste Schritt zur weiteren Ausbreitung der Infektion in den Geweben des Körpers.

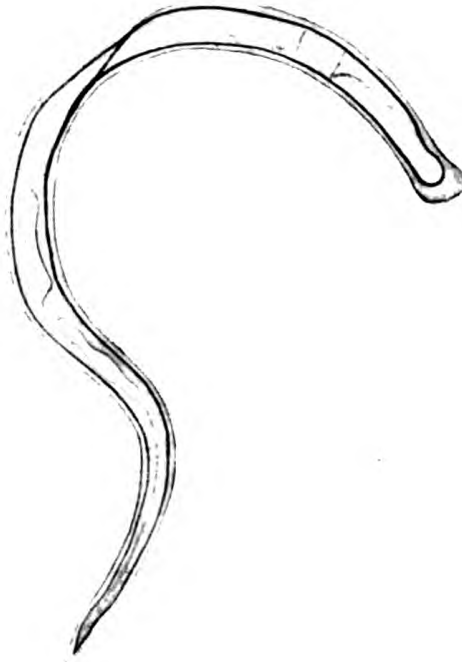
Von wo aus die Filarien ins Auge eingedrungen waren, konnte Pat. nicht erklären, da sie nichts von einem ursprünglichen Neste oder einer initialen Ansiedelung gespürt hat.

Solange die Filarien im Kreislaufe allein sich aufhielten, haben sie dem Wirt keinen fühlbaren Schaden verursacht; erst seit dem Er-

scheinen in den Augen und der weiteren Verbreitung im Körper haben sie verschiedene Beschwerden verursacht.

Beschreibung der Parasiten.

Nach sorgfältigem Studium der Morphologie des Parasiten, so weit dies in gefärbten Präparaten möglich ist, und mit Hilfe der Beschreibung, welche Prof. Fülleborn und Oberarzt Rodenwaldt so kurz und klar in ihren vorzüglichen Arbeiten über die verschiedenen Arten der Filarien gegeben haben, habe ich mich überzeugt, daß die Krankheit durch *Filaria loa* verursacht worden ist.



Die Untersuchungen einer beträchtlichen Zahl von Blutpräparaten haben viele Filarien von verschiedener Größe nachgewiesen. Ein vollständig ausgebildetes und unversehrtes Exemplar ist in der Zeichnung wiedergegeben. Das Präparat ist mit Hämatoxylin Böhmer gefärbt; der Parasit ist von mittlerer Größe.

Die Länge konnte nicht absolut exakt gemessen werden, der Windungen des Tieres wegen. Der Schwanz ist zugespitzt, das Kopfe rundlich. Die Scheide ist ganz klar zu sehen, und zeigt keine Unterbrechungen. Man sieht den gefärbten Saum rings herum; an den Seiten liegt er dicht dem Körper an; am Kopf und den Schwanzenden ist die Scheide länger, als das Tier selbst.

In einem anderen, schwach gefärbten Präparat kann man die Matrixzellen sehr gut sehen.

Die Konturen des Körpers sind regelmäßig; von einer Knauelbildung, oder von undulierenden Grenzlinien ist nichts zu bemerken.

Ueber Analpapillen und Spiculae (Chitinstäbchen) kann ich nichts mitteilen.

Das Tierchen ist bewaffnet, besitzt zwei scharfe, kräftige Zähne (wollen wir sie so nennen), deren freies Ende a) aus einem dünnen, scharfrandigen Plättchen besteht, welches zu einem dünnen, engen Stiele verlängert wird; der letztere wird im Gewebe des Tieres (in der Mundhöhle?) befestigt. Die Zähne können eingezogen werden; man fühlt sie dann gar nicht. Nach dem Tode des Tieres ist sein Mund manchmal offen, und die 2 Zähne treten dann hervor, was dann ein Prickeln und Schneiden in der Conjunctiva verursacht.

Die Größe der Zähne schwankt je nach der Größe des Tieres. Ich habe 2 solcher Zähne in meinen Händen gehabt, die aber leider beide verloren gegangen sind.

In der Zeichnung sind nur die Konturen der Zähne aus der Erinnerung angedeutet, die Proportionen können deswegen fehlerhaft sein; ausführlicher können sie aber nicht beschrieben und gezeichnet werden.

Wenn man sie getrennt von dem Tiere beschaut, so gelingt es manchmal, aber sehr selten, in Präparaten von gut erhaltenen Filarien eine Andeutung eines Zahnes zu sehen. Der Zahn besitzt einen gewissen Glanz, eine Verschiedenheit des Brechungsvermögens, im Verleiche mit dem des Gewebes.

Wenn man die Filarien nicht beunruhigt, so verursachen die Zähne wenig, oder gar keine Schmerzen. Wenn die Tiere aber herumwandern, und besonders wenn sie aufgeregt werden, z. B. durch scharfe Medikamente, so reißen sie und schneiden das Bindegewebe mit ihren Zähnen, um sich eine Bahn zu öffnen, was dann recht schmerzhaft für den Wirt sein kann.

Bilder der Konjugation zweier Filarien, wie es Prof. Fülleborn beschrieben hat, sind deutlich in einigen Blutpräparaten zu sehen, sogar in ziemlich großer Zahl.

Die weitere Verbreitung des Parasiten im Körper folgte bald nach dem Erscheinen derselben in den Augen auf folgende Weise: Eine *Filaria* hat sich aus der äußeren Ecke des rechten Auges entfernt und ist unter der Haut längs dem Oberkiefer bis zum rechten Kiefergelenk gelangt. Dort hat sie ziemlich starke Schmerzen verursacht, ist dann aber weiter nach unten längs der inneren Fläche des Unterkiefers bis zum Halse gekrochen und ist dann in der Nähe des Larynx zum Stillstand gekommen. Hier hat sie sich zusammengeballt, wahrscheinlich um sich auszuruhen. Einige Tage später waren noch leise Bewegungen zu fühlen, danach schien sie abgestorben zu sein, denn sie ließ sich nicht mehr wahrnehmen.

Wenn aber eine *Filaria* sich eine neue Bahn geöffnet hat, so folgen gewöhnlich andere Filarien nach; so war es auch diesmal, denn bald danach hat eine zweite *Filaria* die gleiche Reise gemacht.

Es war ein kräftiges Tier, das sich im Gewebe der Halsgegend viel bewegte und endlich ebenfalls bis zum Rande des Larynx gelangte. Es hat die Kranke sehr belästigt, weswegen sie gern von diesem Tiere befreit werden wollte.

Ein Spray von *Eucalyptus globulus* wurde zu diesem Zwecke empfohlen. Aber dieses Mittel war nicht kräftig genug, um momentan den Tod des Parasiten zu verursachen; es mußte dennoch der *Filaria* sehr unangenehm gewesen sein, möglicherweise auch schmerzhaft — denn sie ist wie toll geworden und schnell nach unten gekrochen längs der Trachea, sie hat dann im Mediastinum anterior das Bindegewebe energisch zerrissen und ist in der rechten Seite des Brustkorbes bis in die Nähe des Diaphragmas gelangt. Da die *Filaria* sich dort ruhig verhielt, hat die Kranke ihre Anwesenheit nicht wahrnehmen können, obwohl das Tier an dieser Stelle über 2 Jahre gelebt hat.

Das Tier ist an diesem Orte nicht immer unbeweglich gewesen; es machte dann und wann Expeditionen rings herum, und zwar hinauf bis zum Rande des Larynx usw., und hat die Kranke sehr beunruhigt und belästigt.

Außer dieser sind noch mehrere Filarien in die Gegend des Brustkorbes eingewandert. Es ist unmöglich, auf sie an diesem geschützten Orte direkt mit Medikamenten einzuwirken; sie sind später nur mit Mühe getötet worden.

Die Verbreitung im Unterhautzellgewebe.

Im Unterhautzellgewebe haben die Filarien die Kranke nicht sehr gestört. Große Promenaden, wie oben beschrieben, haben sie auf lange Strecken nie gemacht.

Ganz junge Filarien sind früher, am Anfange der Krankheit, ziemlich oft unter die behaarte Kopfhaut eingedrungen; hier zerstreuten sie sich nach allen Richtungen hin, und wandert sehr munter herum. Die Zahl der Mikrofilarien, welche auf einmal das Unterhautzellgewebe der Kopfhaut überschwemmten, muß eine ziemlich bedeutende gewesen sein.

Da die Unterlage der Kopfhaut hart ist, hat die Kranke versucht, die Tiere mit den Fingern zu zerdrücken; vielleicht hat sie die Parasiten manchmal getroffen.

Sicher ist, daß die Mikrofilarien später nur selten diese Stelle besuchten. Ob sie wahrgenommen haben, daß das Unterhautzellgewebe des Kopfes ein gefährlicher Ort für sie sein kann, kann ich nicht sagen. An anderen Stellen wurde das Unterhautzellgewebe äußerst selten als Wanderungsort aufgesucht.

Eine Bildung von Hauttumoren, Loageschwülsten, wie sie von Fülleborn, Rodenwaldt, Külz u. a. m. beschrieben sind, haben sich bei der Kranken bis jetzt nie beobachten lassen.

Es haben sich selten, und zwar nur in der letzten Zeit, minimal kleine Knötchen in den Schultergegenden in der Haut gebildet. Sie waren hart, scharf abgegrenzt, nicht größer als ein kleines Stecknadelköpfchen. Entzündungserscheinungen waren bei diesen Knötchen nicht zu bemerken. Vielleicht waren die Knötchen einfach durch die starke Sommerhitze verursacht.

Die Kranke hat die Knötchen möglichst stark zwischen ihren Fingern gedrückt; falls ein Tier darin saß, so mußte es sicher dadurch getötet werden. Die Knötchen verschwanden nach einiger Zeit von selbst.

Zum Stillen von unbedeutenden und seltenen Hautirritationen wurde Glycerine and honey Jelly¹⁾ in kleinen Mengen in die Haut eingerieben. Dies trocknet leicht an der Luft ein und stillt sehr gut die Irritationen, welche aber wahrscheinlich nicht durch die Filarien bedingt waren.

Die Verbreitung der Filarien in den Ohren.

Auch in der Gegend der beiden Ohren sind die Filarien eingedrungen; sie leben da, wie es scheint, schon lange ganz gemächlich. Ihre Nester befinden sich außerhalb des Gehörganges, ungefähr in der Höhe der Kiefergelenke; genau anzugeben, wo sie sich befinden, ist recht schwer. Sie bewegen sich jetzt selten und sehr leise hin und her, und zwar am häufigsten während der Nacht. Sie sind wahrscheinlich durch das schwer durchgängige Knorpelgewebe teilweise oder ganz vor der Arznei geschützt.

Das Hörvermögen ist dabei nicht beeinträchtigt.

Verbreitung des Parasiten unter den Schädelknochen.

Am störendsten für Pat. war die Einwanderung — das Flüchten — der Filarien unter das Schädeldach; diese ging auf folgende Weise vor sich: Die Kranke bekam Schnupfen und machte zu dessen Beseitigung Spülungen der Nase mit einer schwachen Borsäurelösung.

1) Registered title in U.S. Patent Office. In metallic tubes.

Anfänglich ist alles gut gegangen, aber plötzlich fühlte sie gleich nach der Spülung, daß einige große Filarien aus der Nasenhöhle sich unter das Schädeldach flüchteten und sich unter dem Schädelknochen verbreiteten.

Nach der Entfernung des Schleimes aus der Nase sind die Filarien zweifelsohne in direkte Berührung mit der Borsäurelösung gekommen, was ihnen nicht gefallen hat.

Genau zu ermitteln, wohin sie sich wandten, ob sie zwischen den Schädelknochen und der Dura mater, oder noch tiefer hinein wanderten, kann Pat. nicht sagen. Ich glaube kaum, daß die Parasiten mit der Pia mater in Berührung kamen, da sich sonst Blutungen eingestellt hätten.

Am Anfange dieser Invasion ist eine *Filaria* bis zum Os occipitale gewandert, aber sofort wieder in die Stirngegend zurückgekehrt.

Das Gehirn ist nicht so empfindlich, wie z. B. die Conjunctiva oder die äußere Haut, doch gibt die Kranke als ganz sicher an, daß die Filarien im Bereiche der Stirnknochen und der beiden Parietalien zu fühlen sind.

Um schnell und sicher das Gehirn von Filarien zu befreien, hat Pat. sehr fleißig ihre Arznei benutzt; und glücklicherweise scheint das Medikament leicht und in genügenden Mengen in den Blutgefäßen zu zirkulieren. Infolgedessen sind schon mehrere tote, halb zerfallene Filarien durch die Nase ausgeschieden worden¹⁾.

Leider ist jetzt die Bahn geöffnet, und es sind schon mehrere Filarien nach der ersten Invasion wieder in den Schädel eingetreten.

Die allgemeinen Symptome, welche nach dieser Invasion zur Erscheinung kamen, waren folgende:

Es traten starke Kopfschmerzen ein, an welchen Pat. sonst gewöhnlich nicht litt; Hitze der Stirne; dann und wann ein kurz anhaltendes Gefühl von allgemeiner Kälte bei einer Körpertemperatur von 36,6°, 36,4° und 35,9°. (Die mittlere Temperatur der Pat. war im gesunden Zustande 37°.) Benommenheit des Sensoriums, welches charakterisiert wurde durch Vergeßlichkeit, Schwierigkeit bei der Konzentration der Gedanken; Beschwerden beim Gehen, d. h. Unsicherheit der Bewegungen. Außerordentliche Schläfrigkeit trat nicht so stark auf, wie im Falle von Kälz.

Manchmal entstand eine unvollständige Bewußtlosigkeit, bei welcher Pat. wohl herumgehen, aber nicht klar verstehen konnte, was um sie geschah, als ob sie sich im Halbschlaf befände. Ferner traten Schmerzen und manchmal Krämpfe in der Muskulatur der unteren Extremitäten auf.

Dieser Status war am schwersten zu ertragen, schwerer als alle übrigen Symptome, welche bis dahin durch die Infektion mit Filarien bedingt wurden.

Pat. wurde sehr in ihrer Pflichterfüllung, welche sie trotzdem nie unterbrach, und außerdem beim sonstigen Verkehr behindert.

Alle diese Symptome sind intermittierend, nicht kontinuierlich. Es ist klar, daß sie in direktem Zusammenhang stehen mit der Zahl und den Bewegungen derjenigen Filarien, welche innerhalb des Schädels sich befinden. Deswegen kann Pat. nie sicher sein, wenn sie sich z. B. eben verhältnismäßig gut fühlt, wie lange das dauern wird. Es gibt Tage, besonders am Morgen und bei klarer Witterung, wo sie eine Wiederkehr ihrer Energie und klaren Gedanken fühlt und ein fast vollständiges, aber vorübergehendes Wohlbefinden sich einstellt.

Durch den Grad der Schmerzen konnte Pat. ziemlich genau bestimmen, ob die Filarien herumkriechen, oder ruhig liegen. Im ersteren

1) Da ich bis jetzt keine Autopsien von an Filarien gestorbenen Leuten gemacht habe, kann ich nicht genau angeben, auf welchem Wege die lysierten Filarien aus dem Schädel entfernt werden.

Falle ist der Schmerz akuter; die Parasiten öffnen sich wahrscheinlich mit ihren Zähnen eine weitere Bahn. Bei ruhigem Liegen der Parasiten ist der Schmerz dumpfer. Die dumpfen Schmerzen können vielleicht auch die Folge der Verletzungen des Gewebes sein.

Kann man nun annehmen, daß die Verbreitung der Filarien im Schädel zu dem gewöhnlichen Symptomenkomplex dieser Infektion gehört, und daß die Spülungen der Nase diese Verbreitung nur etwas beschleunigt haben?

Nach dem zu urteilen, was ich bei diesem Falle beobachtet habe, muß ich annehmen, daß eine solche Einwanderung unbedingt geschehen kann. Die Filarien verbreiten sich ja nach und nach fast überall hin im Körper.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß Filarien bei unserer Pat. auch schon früher in den Schädel eingetreten sind, aber vereinzelt und nicht so stürmisch, wie während der Spülungen der Nase, weswegen sie anfänglich unbemerkt blieben.

Die Beobachtungen von Dr. Külz über die Symptome eines Falles von Filarieninfektion, welcher in Afrika vorkam, stimmen, wie es scheint, mit den oben geschilderten, die außerordentlich starke Schlafsucht ausgenommen, überein. Külz beschreibt die Symptome als Störungen des psychischen und motorischen Gebietes.

In diesem Falle ist also die Invasion des Gehirns ebenfalls eingetreten; sie ist wahrscheinlich, wenn keine Hilfe vorhanden ist, als die letzte Phase der *Filaria*-Infektion anzusehen.

In diesen beiden beschriebenen Fällen sind die Parasiten als *Filaria loa* angesehen und bestimmt worden.

Die Therapie.

Wie aus der Literatur bekannt ist, sind einige Kranke, welche von diesen Parasiten gequält wurden, zum Selbstmord geschritten.

Die Kranke, deren Infektion mit *Filaria loa* hier beschrieben ist, hat systematisch mit verschiedenen Mitteln experimentiert, um festzustellen, ob es nicht solche gibt, mit Hilfe deren man imstande ist, sich von diesem Schmarotzer zu befreien.

Ein diesbezüglicher Erfolg war um so mehr zu wünschen, als eine sichere, systematische Therapie gegen diesen Schmarotzer nicht bekannt zu sein scheint.

Die allgemeinen Schlüsse, welche ich durch meine Beobachtungen über die Wirkung von verschiedenen Arzneien festgestellt habe, sollen hier vor allem erörtert werden.

Die gebrauchten Medikamente zerfallen in örtliche und im allgemeinen wirkende.

Die örtlich wirkenden Mittel dürfen nach meinen Erfahrungen nur äußerst vorsichtig gebraucht werden.

Diejenigen, welche momentan die Parasiten töten, können von Nutzen sein, während diejenigen, welche den Parasiten nur reizen, aber ihn nicht auf der Stelle töten, für die Kranken schädlich und gefährlich werden können.

Wir haben es bei dieser Infektion mit sehr beweglichen Parasiten zu tun, die mit scharfen Zähnen bewaffnet sind; sie scheinen außerdem eine äußerst zarte, empfindliche Haut zu besitzen. Werden reizende, örtliche Medikamente gebraucht, so flüchten die Parasiten so weit als möglich, wodurch neue Bahnen für andere Filarien geöffnet werden, welche sicher den ersteren folgen.

Dabei werden immer neue Gebiete des Körpers durch die Filarien besetzt, wo sich neue Kolonien ansiedeln.

Also begünstigen reizende, örtliche Medikamente die Verbreitung der Filarien im Körper der Kranken, was natürlich streng zu vermeiden ist.

Die allgemein wirkenden Medikamente müssen natürlich für den Kranken harmlos sein, müssen aber auf den Parasiten tödlich einwirken und müssen ebenfalls leicht diffundierbar sein in den verschiedenen Geweben. Letzteres ist leider nicht immer erreichbar. Während an einigen Stellen die Diffusion und gleichzeitig die Abtötung der Parasiten rasch vor sich geht, geschieht dies an deren Stellen langsamer, und dann bleiben auch die Parasiten länger am Leben. Es gibt Stellen, in welchen die Diffusion anscheinlich fast = 0 ist, so daß die Schmarotzer dann hier lange am Leben bleiben. So erkläre ich mir ihr langes Leben in der Nähe des Gehörganges.

Die örtlich wirkenden Medikamente, welche in diesem Falle gebraucht wurden, und ihr Einfluß auf den Parasiten.

I. Collargolum, 5-proz. Lösung. Augentropfen 3mal täglich.

Die Kranke hat diese stark reizenden Tropfen nur bei Anwesenheit der Filarien in den Augen gebraucht. Die Collargoltropfen töten die Filarien in den Augen, und zwar sowohl die größeren, älteren Tiere als auch die kleinen in ziemlich kurzer Zeit. Die Filarien flüchten dabei nicht weg, da sie auf der Stelle stark angegriffen werden und in den Augen der Kranken sterben. Nachher werden sie in den Augen verflüssigt oder zertrümmert.

Dieses Mittel tötet also die Filarien im Auge selbst durch direkten Kontakt, ist aber auf die allgemeine Infektion bei örtlichem Gebrauche ohne Wirkung. Es reizt übrigens die Augen selbst ziemlich stark.

II. Zerstäubungen mit Eucalyptus globulus. Pat. hat, wie schon erwähnt, einen Parasiten im Halse bekommen, welcher vom Auge aus herunter gekommen war. Es wurden dagegen Zerstäubungen mit einer Lösung von Eucalyptus globulus im Halse verordnet. Diese haben den Parasiten aber nicht getötet, doch waren sie ihm, wie es scheint, sehr unangenehm, vielleicht auch schmerzhaft.

Das Tier hat sich eiligst der Trachea entlang in den Brustkorb geflüchtet und hat sich dabei eine neue Bahn geöffnet, denn nach ihm haben sich dann noch mehrere Filarien im unteren Teile des Brustkorbes angesiedelt und hier über 2 Jahre gelebt.

Dieses Mittel ist daher unter solchen Umständen nicht zu gebrauchen, denn es begünstigt die weitere Verbreitung des Parasiten und tötet denselben nicht.

III. Schwache Borsäurelösung. Eine schwache Borsäurelösung wurde zur Ausspülung der Schleimhaut der Nase gebraucht; dieselbe hat aber die Filarien — mehrere große Tiere — ins Gehirn hineingetrieben. Die Folgen der Ausspülungen waren sehr schlechte und hielten sehr lange an. Ueberhaupt scheint es in diesem Falle sehr gefährlich zu sein, mit der inneren Fläche der Nase in Berührung zu kommen, da sicher in der Nähe Ansiedelungen von Filarien — Muttertieren — verborgen sind, welche schleunigst flüchten, wohin es nur möglich ist, wenn sie mit unangenehm wirkenden Flüssigkeiten in Berührung kommen.

Medikamente mit allgemeiner Wirkung.

I. Chinin. Vor allem wurde Chinin gebraucht (mit oder ohne Zusätze), desgleichen Augentropfen, bestehend aus einer reinen, säurefreien Chininlösung.

Es hat sich dabei gezeigt, daß Chinin gegen den Parasiten gar nicht hilft; die Behandlung mit Chinin ist daher nur ein reiner Zeitverlust; ich habe dies bei einem zweiten Falle von *Filaria*-Infektion, welchen ich ebenfalls diagnostizierte, zum zweiten Male mit Sicherheit konstatiert.

II. Salvarsan. Vor 2 oder mehreren Jahren wurde der Patientin eine Einspritzung von Salvarsan in eine Cubitalvene gemacht, die sehr gut vertragen wurde. Aber von einer einzigen Einspritzung konnte bei einer so schweren, durch verhältnismäßig große Tiere bedingten Infektion ein vollständiger Erfolg nicht erwartet werden. Leider konnten damals die Einspritzungen nicht weiter fortgesetzt werden.

III. Santonin. Die *Filaria loa* ist wohl den Rundwürmern der Eingeweide etwas ähnlich, wie ein Arzt, welchem die Blutpräparate der Kranken gezeigt wurden, bemerkte. Er nahm an, daß es der Mühe wert sei, Santonin zu prüfen, welches möglicherweise ein gewisses Resultat geben könne.

Es wurden daher sofort mehrere Tage hindurch Trochisci von Santonin (zu 0,03 pro Trochiscus) eingenommen, und zwar mit einem gewissen Erfolg; ohne Zweifel sind dadurch Filarien getötet worden. Aber um einen wesentlichen Erfolg hierbei zu erzielen, muß man diese Arznei längere Zeit gebrauchen, was aber nicht möglich war, weil sich Gelbsehen einstellte, weswegen die Kranke das Santonin aufgegeben hat.

Tee.

In Fällen, wo die Kranke von starken Kopfschmerzen und Benommenheit des Sensoriums befallen war, und Pat. klaren Verstand dringend und auf der Stelle nötig hatte, hat sie starken, tintenschwarzen Tee gebraucht. In kurzer Zeit wurde hierdurch eine Besserung des Zustandes erzielt und dabei Arbeitsfähigkeit gewonnen. Tee kuriert die Krankheit nicht, er gibt aber eine vorübergehende Erleichterung, einen Erfolg, welcher in manchen Fällen hoch zu schätzen ist. Dieser Erfolg beruht wahrscheinlich auf dem Koffeingehalt im Tee.

IV. Argentum colloïdale Credé. Nachdem Pat. verschiedene Arzneien gebraucht und geprüft hatte, habe ich ihr geraten, Argentum colloïdale Credé als allgemein wirkendes Mittel zu versuchen.

Alle sind der Meinung, daß Arg. coll. Credé niemals Argyrie verursacht, und daß man dieses Mittel längere Zeit ohne üble Folgen gebrauchen kann. Da meine Kranke es schon mehr als ein Jahr gebraucht hat, so kann ich die sehr wichtige Tatsache bestätigen.

Es wurde 2,0:200,0 Aq. dest., 3mal täglich ein Dessertlöffel voll, eingenommen; ungefähr eine Stunde nach der Mahlzeit, üble Symptome sind nicht bemerkt worden.

Sehr viele Filarien sind während dieser Zeit abgestorben, und zwar zuerst die kleinen, am wenigsten widerstandsfähigen Mikrofilarien, dann die größeren Parasiten; jetzt sterben noch häufig, und zwar fast alle Tage, große Muttertiere, welche sicher an geschützten Stellen gelebt haben.

Häufig kommen die sterbenden Tiere noch in die Augen hinein, lagern sich an den Unterentlidern entlang und sterben dann ab.

Bleibt der Parasit längere Zeit unter den Conjunctiven der Augen am Leben, so ist es ratsam, einige Tropfen Collargollösung einzutropfen, denn manchmal verläßt nach längerem Liegen der Parasit die Augen und kehrt wieder zum Gehirn zurück, wodurch selbstverständlich der Zustand der Kranken verschlechtert wird.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß von einer Angewöhnung der Parasiten an das Arg. coll. Credé nicht die Rede sein kann. Die Vernichtung der Parasiten geht sehr systematisch und beständig vor sich, je nach der Größe der Tiere und je nach ihrem Ansiedelungsorte. Ich nehme daher an, daß Arg. colloid. Credé ein Spezifikum gegen die *Filaria loa* ist.

Um die Infektion schnell mit Erfolg zu bekämpfen, muß die Arznei frühzeitig, ganz am Anfange der Krankheit, gebraucht werden, denn so lange die Filarien noch ganz jung und klein sind, sterben sie viel schneller ab.

Zum Schlusse will ich noch erwähnen, daß der erste Gedanke meiner Pat. nach der Feststellung der Diagnose war, inwieweit die Personen, welche mit ihr in demselben Hause wohnten, vor der Infektion gesichert seien.

Da Prof. Fülleborn experimentell festgestellt hat, daß die Filarien von Mensch zu Mensch durch eine gewisse Mücke übertragen werden, so konnte ich sie diesbezüglich beruhigen.

Ich gebe mich der Hoffnung hin, daß die Kranke von ihren Parasiten vollständig befreit wird, nur muß man große Geduld und Ausdauer haben.

Literatur.

- 1) Fülleborn, Friedrich, Untersuchungen an menschlichen Filarien und deren Uebertragung auf Stechmücken. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. Beih. 9.)
- 2) Fülleborn, F., u. Rodenwaldt, E., Filarien. (Real-Enzyklop. d. gesamt. Heilk. 4. Aufl., herausg. von Eulenburg.)
- 3) Rodenwaldt, Ernst, Die Verteilung der Mikrofilarien im Körper und die Ursachen des Turnus bei *Microfilaria diurna* und *nocturna*. Studium zur Morphologie der Mikrofilarien. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. Beih. 10.)
- 4) Külz, Ueber Kamerungeschwülste und *Filaria loa*. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 13. p. 329.) [Beschreibung der eigenen Erkrankung.]
- 5) Prowazek, S. v. Taschenbuch d. mikroskop. Technik.
- 6) Verdun, P., Parasitologie humaine. Parasites animaux et végétaux, les Bactéries exceptées. Paris 1913.
- 7) Brumpt, E., Précis de parasitologie. Paris 1910.

- 1) In No. 6 und 7 werden kurz gefaßte, nützliche Mitteilungen gemacht.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über halbspezifische Desinfektionsvorgänge.

I. Mitteilung.

Ueber die Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien. Vitalfärbung-Entwicklungshemmung.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut zu Breslau (Vorstand
Geh. Med.-Rat Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Philipp Elsenberg**, Assistenten am Institut.

Einleitende Vorbemerkungen.

Die Wirkung der Anilinfarbstoffe auf Bakterien kann von verschiedenen Gesichtspunkten aus analysiert werden. Erstens dienen die Farbstoffe dazu die Bakterien oder ihre Bestandteile besser sichtbar (in manchen Fällen überhaupt sichtbar) zu machen, um ihre Morphologie und zum Teil ihre Biologie näher zu bringen. Während bis vor kurzem fast nur basische Farbstoffe dafür in Betracht kamen, habe ich vor einem Jahr in einer ausgedehnten Untersuchungsreihe gezeigt, daß unter gewissen Modalitäten auch saure und neutrale Farbstoffe zu diesem Zweck herangezogen werden können. Als Teilfrage von besonderem Interesse für die physikalische Chemie der Bakterienzelle und das Problem der Stoffaufnahme in dieselbe wäre hier noch die sogenannte Vitalfärbung zu erwähnen, mit der wir uns noch weiterhin werden befassen müssen. Ein anderes Problem, ebenfalls von ganz hervorragender Bedeutung, wäre endlich die Mikrochemie der Bakterienzelle, soweit sie mit Hilfe der Anilinfarben gefördert werden kann — leider noch immer ein frommer Wunsch und ein Gebiet für zukünftige Forschung.

Eine zweite Funktion, die den Anilinfarbstoffen neben ihrer optischen — sozusagen im Nebennamen zukommt — ist ihre Desinfektions- resp. entwicklungshemmende Wirkung auf Bakterien. Schon frühzeitig von Koch sowie Behring in ihrer Bedeutung erkannt, hat dieselbe infolge der Arbeiten von Stilling eine Zeitlang in der Behandlung von äußeren Eiterungen sowie Augenkrankheiten Anwendung gefunden, doch sind mit der Zeit infolge mangelhafter Erfolge diese Ansätze zu einer äußeren Chemotherapie in Vergessenheit geraten. Erst die allerjüngste Zeit hat wieder auf diesem Gebiete einige Versuche gebracht, auf die wir noch zu sprechen kommen. Mit dieser Funktion hängen auch zwei weitere biologisch sehr interessante Beobachtungsreihen zusammen — einerseits die auf farbstoffhaltigen Nährböden erzielten mutationsartigen Umwandlungen von Bakterien (Seiffert, Revis, Verf. in noch nicht publizierten Untersuchungen an *B. prodigiosum* und anderen) — andererseits die durch Anpassung an solche Nährböden in vivo oder in vitro erzielte Farbstofffestigkeit von Trypanosomen (Ehrlich) oder Bakterien (Seiffert, Shiga).

Nur eine geringe Bedeutung hat bis jetzt eine weitere Wirkung der Farbstoffe auf Bakterien — die Agglutinationswirkung — erlangen können. Dieselbe beansprucht unser Interesse vorwiegend vom kolloidchemischen Standpunkt (s. die schöne Arbeit von Buxton und Teague) — die ihr von Malvoz sowie von Blachstein vindizierte diagnostische Bedeutung hat der Kritik von Engels u. a. nicht stand halten können.

In dieser Richtung hat dagegen sehr schöne Erfolge eine andere Anwendungsweise der Farbstoffe zu verzeichnen, und zwar als Zusätze zu Nährböden. Dieselben können entweder zum Zweck haben, auf Grund einer elektiven Entwicklungshemmung manche Keimarten auszuschalten um das Wachstum, die Erkennung und Reinzüchtung bestimmter Bakterienarten zu ermöglichen oder zu begünstigen. Oder aber die Farbstoffe dienen als Indikatoren, indem sie durch Farbenänderungen gewisse biochemische Vorgänge in den Kulturen veranschaulichen, was natürlich auch differentialdiagnostisch verwendet werden kann.

Aus dieser flüchtigen Uebersicht kann man leicht die vielfachen Beziehungen ersehen, die zwischen der Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien und manchen sowohl theoretisch als praktisch wichtigen Problemen der Mikrobiologie bestehen, und unter diesem Gesichtspunkte möchte ich auch die im folgenden mitgeteilten Ergebnisse meiner Untersuchungen beurteilt wissen.

Ueber die Cyanochinmethode.

Den Ausgangspunkt dieser Untersuchungen bildeten Beobachtungen die ich mit einem Farbgemisch — bestehend aus gesättigter Chinablau- und Cyanosinlösung und von mir „Cyanochin“ benannt — gemacht habe. Dieses Gemisch von zwei sauren Farbstoffen soll in Anlehnung an ähnliche Versuche von H. Fischer zur Negativdarstellung von Bakterien an Stelle der Tusche dienen. Werden Bakterien darin in dünner Schicht ausgestrichen, so sieht man sie auf blau violetterm Grunde sich als helle, scharf begrenzte Lücken abheben. Dabei zeigen grampositive und gramnegative Arten ein abweichendes Verhalten, indem die ersten eine mattgelbe, orangerosa bis tiefrosa Färbung aufweisen. Die letzteren bleiben ungefärbt — dafür aber weisen sie eine besondere Differenzierung ihres Inhaltes auf, indem eine weiße ungefärbte, besonders an den Polen stärker hervortretende helle Randpartie ein dunkles Zentralgebilde umgibt. Diese Differenzierung der gramnegativen Bakterien ist identisch mit derjenigen, die ich früher (und nach mir Sangiorgi) bei der Tuschemethode (später auch bei der Collargolmethode von Nitsche) ebenfalls bei gramnegativen Arten festgestellt habe¹⁾ und die ich als Ausdruck der beim Antrocknen eintretenden Plasmolyse der gramnegativen Bakterien (nur diese sind nach Fischer, Vahle u. a. plasmolysierbar) betrachte. Eine andere Eigentümlichkeit, die die grampositiven Arten im Cyanochinbild ebenso wie im Tuschebild aufweisen, ist eine Anhäufung des Farbstoffs (resp. der Tusche) um sie herum (besonders an dünneren Stellen des Präparates gut sichtbar), während die gramnegativen kaum eine Andeutung davon aufweisen oder auf einem ganz

1) Diese Angaben bezüglich der Tuschemethode sind auch von Bley bestätigt worden, nur will derselbe eine ähnliche Differenzierung auch beim *B. anthracis*, *Streptococcus agalactiae* und *Str. equi* gefunden haben (an den Bley'schen Abbildungen ist dieselbe nur beim Milzbrand zu sehen). Demgegenüber muß ich jedoch an meinen früheren Angaben festhalten. Dunkle Innengebilde sieht man ab und zu bei grampositiven Arten besonders Bacillen an degenerierenden Individuen, deren Zellinhalt augenscheinlich ausgetreten ist oder austritt, und solche Individuen sind bei der Schnellebigkeit der Bacillen in 24-stündigen Agarkulturen, wie sie Bley untersucht hat, in größerer Zahl zu finden. An ganz jungen lebenskräftigen 8—12-stündigen Kulturen habe ich dergleichen nicht gesehen. Auch bei den leicht degenerierenden Streptokokken mag es sich um dasselbe Phänomen handeln. Diese Erscheinung ist jedoch mit der Differenzierung der gramnegativen Arten, die an ihre Vitalität gebunden ist und an jüngsten Individuen gerade am schönsten eintritt, durchaus nicht identisch. Dafür spricht ja auch der regelmäßige Befund der Differenzierung bei den gramnegativen, seine Seltenheit bei jungen Kulturen der grampositiven.

homogenen Hintergrund liegen. Diese Erscheinung, die ich „Attraktion“ benannt habe, scheint darauf hinzuweisen, daß die Membran der beiden Bakteriengruppen ein verschiedenes Verhalten gegenüber nicht permeierenden Körpern (Kohlepartikelchen-Chinablau) aufweist, während die Färbungsunterschiede beim Cyanochin eine verschiedene Permeabilität für das Cyanosin beweisen. Biologisch nicht uninteressant dürfte die Tatsache sein, daß *Micr. catarrhalis*, Meningokokken und Gonokokken, obzwar gramnegativ im Cyanochin gefärbt erscheinen und damit ihre Zugehörigkeit zur Gruppe der grampositiven Kokken manifestieren; wir werden übrigens auf diese Beobachtung weiter unten noch einmal zurückkommen müssen. Erwähnenswert erscheint auch der Befund bei kapseltragenden Bakterien (*B. anthracis*, *Sarcina tetragena*, absterbende Individuen von *B. pneumoniae*): hier liegt das rosa gefärbte Bakterium innerhalb der farblosen Schleimhülle — diese hat also das Cyanosin passieren lassen, ohne sich selbst damit anzufärben. Eine ähnliche Beobachtung macht man übrigens bei der üblichen Bakterienfärbung, wo die Membran gewöhnlich ungefärbt bleibt, obzwar sie augenscheinlich den Transport des Farbstoffs ins Innere ermöglicht hat¹⁾.

Diese Befunde weisen in Uebereinstimmung mit anderen in neuerer Zeit erhobenen (de Waele, Kantorowicz, Brudny, Kruse und seine Schüler) nochmals darauf hin, daß die Gram-Differenzierung nicht lediglich ein bequemer diagnostischer Behelf ist, sondern daß sie ein Ausdruck ist für tiefgreifende Unterschiede in der physikalisch-chemischen Struktur der beiden Bakterienreiche, die auch für ihr biologisches Verhalten von großer Wichtigkeit sein können. Aus der Tatsache der verschiedenen Färbbarkeit der beiden Bakteriengruppen mit dem Cyanosin ergab sich nun als nächstliegende Fragestellung, ob diese Eigentümlichkeit nur auf die Gruppe der Phtaleinfarbstoffe (Eosin, Methyleosin, Phloxinrot, Rose bengale, Fluorescein, Chrysolin, Erythrosin, Gallein, Coerulein) beschränkt ist oder ob sie auch bei anderen basischen resp. sauren Farbstoffen wiederzufinden ist.

Färbungsversuche.

Als Testbakterien wurden zu diesen Versuchen benutzt: *Micr. pyogenes* α, *M. candidans*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Coryneb. pseudodiphthericum*, *B. anthracis*, *B. subtilis* von grampositiven, *B. typhi*, *B. coli*, *B. pyocyaneum*, *B. vulgare*, *V. cholerae* von gramnegativen. Um die Verhältnisse der Cyanochinfärbung möglichst analog zu gestalten, wurde zunächst sogenannte Vitalfärbung ausgeführt an lebensfeuchtem in Wasser aufgeschwemmtem Material. Da von den Farbstoffen der Eosinreihe bekannt war, daß sie sich wie das Cyanosin verhalten, da sich außerdem ergeben hatte, daß die anderen sauren Farbstoffe nur unter Anwendung besonderer Hilfsmittel (Erwärmen, Beizen) die Bakterien anzufärben imstande sind, kamen bei diesen Versuchen fast nur basische Farbstoffe in Betracht. Verwendet man nun die bekannten Farbstoffe, wie Fuchsin, Methylenblau, Kristallviolett, Malachitgrün, Safranin, in den üblichen Konzentrationen, so werden Unterschiede in der Färbungsintensität und Schnelligkeit nur gering oder gar nicht festzustellen sein. Verwendet man dagegen

1) Ich benutze diese Gelegenheit, um die Cyanochinmethode, die ich seit anderthalb Jahren in ständigem Gebrauch habe, nochmals wegen ihrer schönen Bilder und vielfachen Aufschlüsse, die sie bietet, wärmstens zu empfehlen.

schwächere Farblösungen, die ein zu starkes „Anfallen“ der zu färbenden Objekte nicht befürchten lassen, also Konzentrationen von $\frac{1}{1000}$ — $\frac{1}{20000}$, so sieht man eine deutliche Differenzierung, indem die Färbung der grampositiven Arten eine intensivere ist und schneller erfolgt, als diejenige der gramnegativen. Will man die Unterschiede noch prägnanter darstellen, so färbt man eine gemischte Aufschwemmung von je einer grampositiven und einer gramnegativen Art (am besten von solchen, die morphologisch gut unterscheidbar sind, also etwa *M. pyogenes* + *B. typhi* oder *B. anthracis* + *V. cholerae*). Man kann hier nach einigen Sekunden bis Minuten ziemlich stark gefärbte Kokken neben farblosen Kurzstäbchen des *B. typhi* feststellen. Die letzteren bleiben entweder auch weiterhin farblos (wenn die Kokken den ganzen Farbstoff an sich gerissen haben), oder sie färben sich langsam nach — aber lange nicht so intensiv wie die grampositive Art. Diese allmähliche Nachfärbung ist wohl zurückzuführen auf die Giftwirkung des Farbstoffs, die mit der Zeit den Färbungswiderstand der Bakterienzelle unterkriegt. Hat doch Buchner schon vor vielen Jahren gezeigt, daß durch Abtöten von Sproß- oder Spaltpilzen ihr Färbungswiderstand behoben wird (bemerkenswert ist, daß gerade das *B. typhi* als Beispiel für solche Arten anführt, die im lebenden Zustand eine deutliche Resistenz aufweisen). Auch direkt nach dem Zusammenbringen mit dem Farbstoff verhalten sich übrigens nicht ausnahmslos alle Individuen der gramnegativen Art ablehnend gegen den Farbstoff, man wird einzelne finden, die sich ziemlich schnell anfärben — wahrscheinlich degenerierende oder abgestorbene Exemplare, wie sie jede auch junge Kultur aufweist (zum Teil vielleicht Ueberbleibsel von der Einsaat). Der Grad der Resistenzunterschiede wechselt je nach den beiden zum Versuch herangezogenen Arten, auch nach ihrem biologischen Zustand. Färbt man in konzentrierteren Farblösungen, so werden erstens durch ihre Giftwirkung die Unterschiede der Resistenz rasch ausgeglichen — andererseits lassen die überfärbten Objekte genauere Vergleiche der Färbungsintensität nicht gut zu.

Angesichts dieser Ergebnisse ergab sich die weitere Frage, ob auch am fixierten Präparat grampositive und gramnegative Arten Unterschiede der Färbungsintensität aufweisen. Tatsächlich sind solche Unterschiede vorhanden — aber auch hier nur, wenn man mit schwachen Farbstofflösungen kurz färbt. Am gewöhnlichen in der üblichen Weise mit Fuchsin oder Kristallviolett gefärbten Präparat wird das kundige Auge die Differenzen wohl erkennen — aber ausgesprochen sind sie dann nicht — auch nicht in allen Kombinationen treten sie zutage — färbt man diskret, so sind sie meist sehr augenfällig — wenn auch natürlich einzelne Individuen der gramnegativen ebenso intensiv gefärbt sein können, wie die Mehrzahl der grampositiven. Zu diesen Versuchen eignen sich am besten farbkraftige dunkle (rechtsspektrale) Farbstoffe — bei den hellen sind Intensitätsunterschiede schwer festzustellen. Auch hier bekommt man die überzeugendsten Bilder, wenn man die verschiedenen Arten nicht jede für sich, sondern in entsprechend zusammengestellten Gemischen, färbt, wie oben beschrieben wurde.

Zur Theorie der Gramfärbung.

Das Resultat dieser Versuche führt nun von selbst dazu, nochmals zur Frage der Gramfestigkeit Stellung zu nehmen, mit der ich mich bereits in einigen Arbeiten befaßt habe. Es gilt immer von neuem die Beobachtungen über den Mechanismus dieser Färbung und denjenigen

über die verschiedenen biologischen und biochemischen Eigentümlichkeiten beider Bakteriengruppen zu konfrontieren und nach Möglichkeit eine einheitliche Erklärung zu versuchen. In der mehrfach schon zitierten Abhandlung „Ueber Bakterienfärbung mit sauren und neutralen Farbstoffen“ habe ich folgende Ansicht über den Mechanismus der Gramfärbung ausgesprochen (p. 151—152): „Die grampositiven Arten besitzen eine besondere (adsorptive?) Affinität für dunkle großmolekulare Farbstoffe (seien es basische oder saure), färben sich mit ihnen intensiver und halten sie bei Entfärbungsprozeduren kräftiger fest, als die gramnegativen. Die Einführung von Beizen, wie Jod oder Pikrinsäure, verfolgt den Zweck, die Farbstoffmoleküle noch zu vergrößern und damit die nicht immer genügend prägnanten Differenzen zu steigern und anschaulicher zu machen. Zu demselben Endresultat führt die Umwandlung von basischen resp. sauren Farbstoffen in neutrale, deren großes Molekül nur dem Protoplasma der grampositiven Arten adäquat erscheint. Damit ist natürlich nur der färberische Mechanismus des Gram-Verfahrens dargestellt, die intime Ursache, die die darin sich kundgebenden Differenzen bedingt, ist noch nicht aufgeklärt.“

Ich glaube nun, daß die oben mitgeteilten Ergebnisse uns in dieser Frage einen Schritt weiter bringen. Sie zeigen, daß sowohl bei der sogenannten Vitalfärbung als auch am fixierten Präparat die grampositiven Arten schneller und intensiver gefärbt werden als die gramnegativen. An der Färbung von Zellgebilden sind notwendigerweise zwei Faktoren beteiligt: erstens muß der Farbstoff in die betreffende Zelle eindringen können, zweitens muß er vom Protoplasma resp. seinen Einschlüssen auch gespeichert und zurückgehalten werden können, entweder durch Absorption (Fettfärbung) oder durch beschränkt reversible Adsorption. (Ob auch chemische Bindungen als Folge der Adsorption vorkommen, ist eine noch unentschiedene Frage.) Daß der Farbstoff eindringt, bedingt noch keine Färbung — sahen wir doch oben bei Kapselbakterien im Cyanochinbild die Kapsel ungefärbt, trotzdem sie das Cyanosin ins Innere hatte passieren lassen. Es muß eben noch eine physikalische (Lösungs-), physikochemische (Adsorptions-) oder chemische Affinität zum Farbstoff oder seinen Bestandteilen vorhanden sein um eine wenigstens waschechte Färbung resultieren zu lassen. Eine gradweise verschiedene Permeabilität beider großen Bakteriengruppen stimmt nun gut zu ihrer verschiedenen Plasmolysierbarkeit; nach den Befunden von Fischer, Vahle, Nicolle und Alilaire, Brudny, sowie nach den Ergebnissen der Tusche-, Collargol- und Cyanochinmethoden sind nur gramnegative Arten plasmolysierbar, d. h. für Elektrolyten relativ impermeabel. Diese Feststellung würde die Annahme in sich schließen, daß die Farbstoffe als Salze zu betrachten sind, was sowohl nach ihrer chemischen Konstitution als auch nach sonstigen Beobachtungen (Pelet-Jolivet) zutreffen dürfte. Beim leichten Eindringen der meisten basischen Farbstoffe sind die Unterschiede hier nicht so prägnant, wie etwa beim Cyanochin, wo bei der Vitalfärbung (die hier nur kurz dauert, bis zum Eintrocknen der Schicht) die gramnegativen ganz ungefärbt bleiben, bei den grampositiven erst eine ganze Skala von abgestuften Färbungsintensitäten bei verschiedenen Arten vorkommt. Bei der Gram-Methode resultiert aus diesen Verhältnissen zuerst beim ersten Akt eine verschieden intensive Färbung mit dem Violett (oder einer anderen dunklen Farbe), beim zweiten Akt der Jodierung spielt die verschiedene Permeabilität vielleicht wieder eine Rolle, indem das Joddoppelsalz resp.

das Jod in verschiedener Menge in die grampositiven und gramnegativen eindringen kann, es wird folglich auch die Menge der in den Bakterien gebildeten Jod-Violettverbindung variieren können. Bei der nachfolgenden Differenzierung tritt nun die verschieden starke Affinität des Protoplasmas zum Farbstoff in ihre Rechte, das Resultat ist die leichtere Entfärbbarkeit der schwächer durchgefärbten gramnegativen.

Welcher Anteil am Resultat im Einzelfall jedem dieser beiden Faktoren — Permeabilität und Affinität — zukommt, ist momentan kaum zu entscheiden, ebenso, worauf die beobachteten Differenzen beruhen. Diese Fragen, ebenso wie manche andere, die sich daran knüpfen, sollen weiter unten nach Darstellung der Hemmungs- und Desinfektionsversuche noch eingehender besprochen werden.

Versuche über Entwicklungshemmung.

Auf Grund der soeben besprochenen Befunde betreffs der Färbungsdifferenzen zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien wurde untersucht, ob diese Differenzen auch beim Wachstum dieser Mikroben auf cyanosinhaltenen Nährböden zutage treten würden. Es ergaben sich dabei so auffallende Unterschiede, daß es angezeigt erschien, denselben weiter nachzuforschen, vor allem aber festzustellen, ob diese Erscheinung für alle Farbstoffe gilt. Bevor ich die Resultate der dahin zielenden Versuche wiedergebe, sei ganz kurz ihre Technik dargelegt. Um die entwicklungshemmende Wirkung der Anilinfarbstoffe zu studieren, wurde ausschließlich mit farbstoffhaltigem Agar gearbeitet, und zwar vorwiegend in Form von Schrägagarröhrchen. Bouillon wurde zu den Versuchen nicht herangezogen, einerseits, weil sie mit vielen Farbstoffen Niederschläge gibt, und auf diese Weise einen Teil des Farbstoffs unwirksam macht, andererseits, weil die Feststellung der Resultate speziell bei höherem Farbstoffgehalt erschwert und eine quantitative Bewertung der Abstufungen des Hemmungserfolges nicht möglich ist. Dem verflüssigten Agar wurden auf dem siedenden Wasserbade die betreffenden Farbstoffe entweder in Substanz oder in Form entsprechender Lösungen zugesetzt und dann, um eventuell Zersetzungen des Farbstoffs zu vermeiden, der Agar nicht nochmals sterilisiert, sondern unter entsprechenden Kautelen noch ganz heiß in sterile Röhrchen abgefüllt, die sodann schräg gelegt wurden. Eine Verunreinigung des Agars wurde in den zahlreichen Versuchen bei diesem Vorgehen nie beobachtet. Nur in wenigen Fällen wurde der gefärbte Agar in Petri-Schalen gegossen und nach Erstarren kurz (etwa 30 Minuten) im Brutschrank vorgetrocknet (die Platten wurden umgedreht und die obere agarhaltige Schale gelüftet). Die Platten wurden dann so beimpft, daß auf die eine Hälfte ein grampositives, auf die andere ein gramnegatives Bakterium ausgestrichen wurde, was oft einen sehr überzeugenden Kontrast abgab.

Was das Impfmateriel betrifft, so konnte natürlich angesichts der vielen zu untersuchenden Färbstoffe nicht daran gedacht werden, alle möglichen Bakterienarten durchzuprüfen, vielmehr mußte ich für die Mehrzahl der Versuche eine Reihe typischer Testbakterien aus beiden Gruppen wählen und nur in wenigen Versuchen mit einigen typischen Farbstoffen eine größere Anzahl von Bakterienarten auf ihre Uebereinstimmung mit den bereits gefundenen Gesetzmäßigkeiten untersuchen. Sowohl unter den grampositiven, als auch unter den gramnegativen wurden solche Arten vermieden, die wegen besonderer Fragilität oder besonderer Ansprüche an den Nährboden die Beurteilung von Hemmungs-

versuchen erschweren. Für die Mehrzahl der Versuche wurden daher folgende repräsentative Arten gewählt:

Grampositive: *B. anthracis*, *Sarcina tetragena*, *Micr. pyogenes* α , *Micr. candidans*, *Coryneb. diphtheriae*, *Coryneb. pseudodiphthericum*.

Gramnegative: *B. typhi*, *B. coli*, *B. pneumoniae*, *B. pyocyaneum*, *B. vulgare*, *V. cholerae*.

Selbstverständlich gelangten nur typische, einwandfreie Stämme zur Untersuchung. Als Impfmateriel dienten in der ersten Zeit Schrägagarkulturen (18–24-stündig), wobei versucht wurde, eine ungefähr gleichmäßige Kulturmenge zur Aussaat zu verwenden. Die weiteren Erfahrungen zeigten jedoch, daß diese Methode nicht die beste ist, vor allem, weil bei reichlichem Aufbringen von Impfmateriel später zuweilen die Unterscheidung schwer fallen kann, ob das Wachstum ganz ausgeblieben ist oder doch spurweise erfolgt ist. Daher wurde später zu jungen Bouillonkulturen übergegangen, von denen eine (immer dieselbe) Oese zur Besäung eines Agarröhrchens diente. Choleravibrionen wurden dabei auf Cholerabouillon gezüchtet, Diphtherie auf Löffler-Serum, dessen Belag dann, in einem Bouillonröhrchen aufgeschwemmt, das Impfmateriel abgab. Die besäten Röhrchen wurden 2 Tage bei 37° gehalten und dann noch einige Tage bei Zimmertemperatur auf nachträgliches Wachstum kontrolliert (das übrigens nur ganz ausnahmsweise und in sehr beschränktem Umfang eintrat). Fand das Wachstum in normaler Ueppigkeit statt, so wurde es mit +++ bezeichnet, war es etwas geringer, so daß das Konfluieren von Einzelkolonien eben angedeutet war, so wurde von mäßigem Wachstum (++) gesprochen, war das Wachstum deutlich gehemmt, aber noch eben in Form eines Belags, so wurde es als schwach (+) vermerkt. Bei noch stärkeren Hemmungserscheinungen vereinzelte Kolonien — und zwar sehr viele, viele, mäßig zahlreiche (50–100) — oder nur einige. Bei der *Sarcina tetragena* und beim *B. pneumoniae* wurde darauf geachtet, ob das Wachstum typisch schleimig war — eine Hemmung offenbarte sich oft auch in der verminderten oder fehlenden Schleimproduktion (bezeichnet als „schleimig“ oder „flach“). Beim *B. pyocyaneum* wurde eventuell Fluorescin- oder Pyocyaninbildung kontrolliert, jedoch war besonders letztere wegen der Färbung des Agars oft nicht zu erkennen. Das *B. vulgare* wurde in Form eines Impfstrichs durch die Mitte des Agars geimpft und auf Ausschwärmen der Bakterien über die ganze Agarfläche geachtet, dessen Ausbleiben hier trotz guten Wachstums im Strich bereits eine Hemmung andeutet. Normalerweise wird binnen 48 Stunden die ganze Agarfläche vom schleierartigen Belag bedeckt, reichte derselbe nur etwa zur Hälfte der Agarhöhe, so sprach ich von „mäßigem Ausschwärmen“, waren am Impfstich nur einzelne Protuberanzen zu sehen, so wurde das als „schwaches Ausschwärmen“ taxiert. Da manche der hier angewandten Farbstoffe photodynamisch aktiv sind, sei hier noch bemerkt, daß die Kulturen im Dunklen gehalten wurden und daher Lichtwirkungen bei der Beurteilung der Hemmungserfolge nicht in Betracht kommen.

Was die Vergleichbarkeit der ersten Serie von Versuchen, in denen Agarmateriel, mit der zweiten, in der Bouillonmateriel zur Beimpfung verwendet wurde, betrifft, so ist folgendes im Auge zu behalten. Die Bakterienmenge spielt, wie Regenstein im hiesigen Institut in besonderen Versuchen mit Phenol und HgCl₂ dargetan hat, bei der Ent-

wicklungshemmung eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Eine größere Aussaat enthält eine größere Anzahl von Individuen extremer Resistenz, die den Grenzwert bedingen — sie verschiebt also den Grenzwert nach oben nach den stärkeren Konzentrationen zu), während eine kleinere im entgegengesetzten Sinne wirken kann. Sodann binden die Bakterien manche Antiseptika (s. die Arbeit von Verf. und Okolska), und es kann bei größerer Impfmenge das Milieu für die Ueberlebenden vollständiger entgiftet werden, als bei kleinerer. Im Sinne dieser Ausführungen wird man die in der ersten Serie erhaltenen Resultate als Maximalwerte betrachten, d. h. als Ausdruck der Höchstwiderstandsfähigkeit der betreffenden Art, diejenigen der zweiten eher als Normalwerte.

Wenn wir nun den bunten Reigen der in den Versuchsprotokollen (s. Tab. III) wiedergegebenen Beobachtungen überblicken und dieselben auf ihre gesetzmäßigen Zusammenhänge prüfen wollen, so müssen wir uns vor allem einige Fragen vorlegen, und zwar erstens: welche Farbstoffe wirken entwicklungshemmend?, sodann: bestehen gewisse Korrelationen zwischen der entwicklungshemmenden Funktion der Farbstoffe und ihren sonstigen Eigenschaften?, sodann: warum werden nicht alle Bakterienarten von den Farbstoffen gleichmäßig beeinflusst?

Ueber die Toxizität der Anilinfarbstoffe.

Was nun zunächst die erste Frage betrifft, so sei vorausgeschickt, daß ein exakter Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Farbstoffe auf manche Schwierigkeiten stößt. Erstens deshalb, weil die Farbstoffe, wie sie die Farbfabriken vor allem für technischen Bedarf herstellen, nicht immer chemische Individuen sind, sondern manchmal entweder absichtlich zugesetzte, aus technologischen Gründen notwendige (Dextrin) oder nur von der Fabrikation herrührende, zum Teil nicht indifferente (Arsen) Beimengungen enthalten. Bei manchen Doppelsalzen (z. B. mit Zinkchlorid) ist diese obligate Beimengung als für die Bakterien nicht indifferent mit in Rechnung zu stellen. Aus diesem Grunde wurde auch darauf verzichtet, mit äquimolekularen Lösungen zu arbeiten, die ja nur bei einigen besonders reinen oder kristallisierten Farbstoffen Anspruch auf genaue Einstellung und somit Vergleichbarkeit erheben könnten. Man wird daher beim quantitativen Vergleich der Wirksamkeit der Farbstoffe sich nur an ganz ausgesprochene Konzentrationsdifferenzen halten, wobei dann — die Reinheit des Farbstoffmaterials supponiert — die Unterschiede der Molargewichte (meist zwischen 300 und 900) nicht so sehr in Betracht kommen. Weiter aber setzt der zum Teil sehr gewaltig verschiedene Löslichkeitsgrad verschiedener Farbstoffe einer genauen Auswertung (speziell nach oben zu) zuweilen unübersteigbare Hindernisse in den Weg. Sodann ist noch ein Umstand beim quantitativen Vergleich der Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Bakterienarten nicht aus dem Auge zu lassen — genau vergleichbar sind hier nämlich nur solche Versuche, in denen die Einsaat der Bakterien gleich groß ist. Das ist nun ein schwer zu erfüllendes Postulat: nicht nur, daß dasselbe Bakterium an verschiedenen Tagen verschieden dicht getrühte Kulturen ergeben kann, sondern auch gleichzeitig beimpfte, gleichalterige Kulturen verschiedener Bakterienarten sind untereinander nicht ganz gleichwertig. Erstens müßte man trachten, dieselbe Bakterienmenge, und zwar nicht nach der Anzahl der Individuen, sondern nach dem Gewicht der Bakteriensubstanz, zu verwenden — sodann aber ist der biologische Zustand, der

für die Resistenz maßgebend sein kann, bei gleichalterigen Kulturen verschiedener Bakterienarten nicht ganz identisch, speziell, wenn es sich um Bakterien von sehr verschiedenem Wachstumstempo handelt.

Aus den Tabellen ist zu ersehen, daß eine stattliche Reihe von Farbstoffen auf verschiedene Bakterien entwicklungshemmend wirkt — auf welche Bakterienarten, lassen wir vorderhand unerörtert —, während andere selbst in ziemlich hohen Konzentrationen sich als unschädlich oder fast unschädlich erweisen. Ueber 1—3 Proz. wurde dabei nicht hinaufgegangen, um das Mitspielen reiner Salzwirkung nicht in den Kauf nehmen zu müssen. Sodann aber sehen wir, daß unter den wirksamen Farbstoffen sehr bedeutende Differenzen im Grad der Wirksamkeit bestehen, indem die einen (Kristallviolett, Dahlia, Viktoriagrün) noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{1000000}$ das Wachstum bestimmter Bakterien zu hemmen vermögen, andere dazu erst in einer Konzentration von $\frac{1}{50}$ (Azosäuregelb, Patentblau A) oder $\frac{1}{100}$ (Tropäolin OO, Rosazurin B) fähig erscheinen.

Gibt es nun irgendeinen Zusammenhang zwischen dieser Funktion, eventuell ihrer Intensität und den chemischen resp. physikalisch-chemischen sowie physikalischen Eigenschaften der Farbstoffe? Um dieser Frage näher treten zu können, müssen wir zunächst trachten, uns über die Grundlagen der Entwicklungshemmung klar zu werden. Es ist ja naheliegend, anzunehmen, daß die Entwicklungshemmung, ein in gewissen Grenzen reversibler Vorgang, nur als schwächerer Ausdruck der toxischen Wirkung der Desinfizienten zu betrachten ist. Neben dieser sehr plausiblen Annahme besteht noch eine andere, jedenfalls denkbare Möglichkeit — das entwicklungshemmende Agens könnte nämlich, ohne direkt die Bakterien zu beeinflussen, den Nährboden in der Weise durch chemische (oder physikalische) Bindung oder Umsetzung verwandeln, daß die Ernährungsmöglichkeiten oder die osmotischen Existenzbedingungen der Mikroorganismen unterbunden und dadurch die Entwicklung gehemmt würde. Ob diese letztere Möglichkeit zutrifft, ist meines Wissens überhaupt noch nicht untersucht worden (bei manchen Salzwirkungen könnte daran gedacht werden) — für den Fall der Farbstoffe, die oft in extremen Verdünnungen wirksam sind und dabei auch zum Teil sehr ausgesprochene (in der Färbung zum Ausdruck gelangende) Affinität zum Bakterienleib aufweisen, wird man wohl nicht fehlgehen, wenn man die Entwicklungshemmung vor allem auf toxische Wirkungen zurückführt.

Soll nun ein Körper auf Bakterien toxisch wirken, so muß er zunächst in die Bakterienzelle hineingelangen und zweitens vom Bakterienprotoplasma chemisch oder physikalisch festgehalten werden. Das erste Problem fällt bei den Farbstoffen mit der Frage der Permeabilität resp. Vitalfärbung zusammen, das zweite beherrscht in der klassischen Prägung von Ehrlich: „Corpora non agunt nisi fixata“ die modernen pharmakologischen und toxikologischen Untersuchungen sowie die chemotherapeutischen Bestrebungen. Sowohl damit Färbung, als auch damit toxische Wirkung zustande kommt, müssen beide Bedingungen erfüllt werden — es ist sowohl der Fall denkbar, daß ein seiner chemischen Konstitution nach als wirksam anzusprechender Körper unwirksam bleibt, weil ihm dank bestimmter physikalisch-chemischer Eigenschaften der Eintritt in die Zellen verwehrt ist, als auch derjenige Fall, daß ein Gift manchen Organismen oder Zellarten gegenüber versagt, während es in anderen Fällen sich als wirksam erweist. Andererseits genügt die Permeabilität an sich noch nicht zur toxischen Wirkung, der giftige Körper muß in innigeren Kontakt mit dem Protoplasma resp. seinen Bestand-

teilen treten können, wozu eine einfache passive Durchtränkung kaum genügt. Was den endgültigen Prozeß der Abtötung betrifft, so sind darüber bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse vom Aufbau des Protoplasmas leider nur mehr oder minder begründete Vermutungen erlaubt. In manchen Fällen mag es sich um tiefer greifende Umsetzungen oder Abbau handeln (Säuren, Oxydationsmittel), in anderen um Besetzung und Ausschaltung lebenswichtiger Gruppen, in anderen wieder — und ihre Zahl mag nicht gering sein — vielleicht nur um physikalische Anlagerung (Adsorption) und dadurch bedingte Störungen im kolloidalen Aufbau des Protoplasmas.

Diese theoretisch auseinanderzuhaltenden drei Faktoren — Permeabilität, Fixation und eigentliche Giftwirkung — lassen sich nun aber nicht in jedem Einzelfall mit der wünschenswerten Sicherheit feststellen. Man hat nun durch experimentell-analytische Forschung versucht, die Rolle dieser drei Faktoren näher zu präzisieren, und vor allem auch ihren Zusammenhang mit chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der betreffenden Körper zu eruieren. Zu Untersuchungen über die Permeabilität der Zellen (und Organe) hat man vor allem Farbstoffe und Narkotika herangezogen, weil bei den ersten die Färbung, bei den anderen der toxische Effekt als Beweis für das erfolgte Eindringen fungieren kann. Wir wollen nun die Tatsachen und Theorien der Vitalfärbung uns in gedrängter Uebersicht vor Augen führen, um, darauf gestützt, zu unserem Tatsachenmaterial Stellung zu nehmen.

Ueber Vitalfärbung und Zellpermeabilität.

Seit mehr als einem halben Jahrhundert sind sehr zahlreiche Vitalfärbungsversuche sowohl an Tieren als auch an Pflanzen unternommen worden. Sie verfolgten zum Teil histologische, zum Teil aber auch physiologische Zwecke. Zu diesen letzteren gehört auch die Ergründung des Mechanismus der Stoffaufnahme, die uns hier beschäftigen wird. An pflanzlichen Objekten sind es die in vielen Zellarten enthaltenen Gerbstoffe und manche andere Bestandteile des Zellsaftes, die eine Bindung der eingedrungenen Farbstoffe bedingen und dadurch die Feststellung des Eindringens ermöglichen — am Plasma ist die Färbung meist sehr schwach und erst nach Plasmolysierung festzustellen. Bei Tieren ist die Färbung immer auf einzelne Zellbezirke beschränkt, und in den Zellen selbst sind es meist nur granuläre Gebilde, die die Färbung annehmen, während das restliche Protoplasma und die Kerne ungefärbt bleiben.

Diese Feststellungen sind von großer Bedeutung, wenn man durch Vitalfärbungsversuche nicht nur die Aufnahmefähigkeit für einen bestimmten Farbstoff feststellen, sondern auch entscheiden will, ob das Substrat der Vitalfärbung lebendes Protoplasma ist. Daß ein Tier, dessen einzelne Organe oder Zellterritorien sich „vital“ gefärbt haben, in der betreffenden (meist stark verdünnten) Farbstofflösung ungeschädigt weiter lebt, ist noch kein Beweis dafür, daß diese Zellen auch im Zustand ungeschmälerter Lebenstüchtigkeit sich befinden. Auch können in einer sonst lebe- und vermehrungsfähigen Zelle die vital gefärbten Granula paraplasmatische Gebilde oder tote Ausscheidungsprodukte darstellen. Daher sagt auch Fischel in seinem trefflichen Uebersichtsartikel über vitale Färbung: „Eine scharfe Definition des Begriffes einer ‚vitalen‘ Färbung und demzufolge auch eine Einschränkung der Zulässigkeit der Anwendungsweise dieser Bezeichnung läßt sich allerdings kaum geben, und zwar deshalb nicht, weil man ein absolut sicheres, morphologisches

Merkmal des ‚Lebens‘ histologischer Elemente nicht anzugeben vermag.“ (Siehe auch die Ausführungen von Przesmycki, Galeotti, Lee u. Mayer u. a.) Wir werden weiter unten bei der Besprechung der Vitalfärbbarkeit der Bakterien sehen, daß auch bei diesen Organismen, ebenso wie bei anderen Einzelligen, die Entscheidung über diese Frage kaum möglich ist.

Die erste Beobachtung betreffend die elektive vitale Tinktionsfähigkeit mancher Farbstoffe machte Ehrlich in seinen berühmten Untersuchungen „Ueber das Sauerstoffbedürfnis des Organismus“. Er wies darauf hin, daß diejenigen Farbstoffe, die imstande sind, die Nervenendigungen vital zu färben, auch im Fettgewebe gespeichert werden, daß also, wie er sich ausdrückt, neurotrope Farbstoffe auch lipotrop sind. Auf pharmakologischem Gebiet hat zuerst Pohl die Wichtigkeit des Verteilungsprinzips für das Verständnis selektiver Giftwirkung dargetan.

An seine Untersuchungen sowie an diejenigen Spiros schließt sich die umfassendste Theorie der Stoffaufnahme in Zellen, die noch bis jetzt im Mittelpunkt der diesbezüglichen Diskussionen steht, diejenige von H. Meyer sowie Overton. Untersuchungen über Narkose hatten ergeben, daß die narkotische Wirksamkeit verschiedener organischer Substanzen symbat ist mit der Erhöhung des Verteilungskoeffizienten der betreffenden Substanz zwischen Lipoid-(Oel-)Phase und wässriger Phase. Demzufolge wurde die Aufnahme der Narkotika in das Zentralnervensystem auf die elektive Löslichkeit derselben in den Gehirnlipoiden zurückgeführt und mit Ausschüttelungsvorgängen *in vitro* analogisiert. Auf Grund ausgedehnter weiterer Untersuchungen über die Aufnahme von mehr als fünfhundert verschiedenster Substanzen kam sodann Overton zur Ueberzeugung, daß „alle solchen Substanzen, die in fetten Oelen und ähnlichen Lösungsmitteln leicht löslich sind, von der lebenden Zelle rasch aufgenommen werden, daß aber solche Verbindungen, welche in fetten Oelen unlöslich oder sehr schwer löslich sind, im allgemeinen nicht oder recht langsam in die lebende Zelle eindringen, sofern ein aktives Eingreifen des Protoplasmas bei der Aufnahme ausgeschlossen ist“. Das führte O. zur „Vermutung, daß eine Imprägnierung der Plasmahäute durch Cholesterin oder durch ein Cholesterin-Lezithin-Gemisch die eigentümlichen osmotischen Eigenschaften der Zelle bedingt.“

Uns interessieren ganz besonders die Untersuchungen Overtons über Vitalfärbbarkeit pflanzlicher und tierischer Zellen durch Anilinfarbstoffe (ca. 45). Sie ergaben als allgemeines Resultat, daß basische Farbstoffe äußerst schnell in die Zelle eindringen (nur Rhodamin etwas langsamer), daß die meisten Sulfosäure-Farbstoffe gar nicht aufgenommen werden (nur Methylorange und die Tropäoline OO und OOO langsam), von anderen Säurefarbstoffen nur die Eosine ausnahmsweise durch Wurzeln und Wurzelhaare. Zuerst deutete Overton die leichte Permeabilität der basischen Farbstoffe in der Weise, daß er eine hydrolytische Spaltung ihrer Lösungen annahm und die meist stark lipoidlöslichen freien Farbbasen in die Zellen hineingelangen ließ. Später hat er diese nur in seltenen Fällen zutreffende Deutung fallen gelassen und glaubt, daß die Salze der Farbbasen als solche aufgenommen werden. Die Möglichkeit dieser Aufnahme ist nach ihm dadurch gegeben, daß diese Salze in Oelen oder in Cholesterinlösungen (in Olivenöl, Benzol, Terpentin, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Xylol) löslich, während die meisten Sulfosäurefarbstoffe darin unlöslich, nur die aufnehmbaren wenig löslich sind. Ganz ähnliche Löslichkeitsverhältnisse ergab Benzol-Lezithin. Außerdem unter-

suchte Overton die Verteilung von Farbstoffen zwischen Wasser und Aethyl (Cholesterin ist wegen des hohen Schmelzpunktes nicht verwendbar), Amylalkohol, Octylalkohol und fand ihn stark zugunsten der Lipoidphase (1:12—1:50). In Uebereinstimmung damit ergaben Ausschüttelungsversuche und wässriger Methylenblaulösung und Benzol-Cholesterin eine starke Speicherung in der Lipoidphase. Endlich hat Overton — und diese Versuche sind vielleicht nach dem gegenwärtigen Stand der Frage, wie wir sehen werden, von größtem Wert — die Aufnahme von Farbstoffen durch in Wasser suspendiertes und gequollenes Lezithin, Cerebrin und Protagon untersucht und auch hier Parallelität zwischen der Lipoidspeicherung und Aufnehmbarkeit in lebende Zellen feststellen können. Die von den suspendierten Lipoiden gespeicherten Farbstoffe sollen nach seiner Anschauung darin „in Form einer starren Lösung enthalten sein“. Auch hier fand also Overton seine allgemeinen Anschauungen über den Mechanismus der Stoffaufnahme voll bestätigt und es wurden auch nachher die Farbstoffversuche als eine der Hauptstützen der Lipoidtheorie (Hypothese wäre wohl richtiger gesagt) angeführt.

Der Overtonschen Hypothese gebührt jedenfalls das Verdienst, zuerst eine umfassende und einheitliche Erklärung für ein großes und wichtiges Tatsachengebiet versucht zu haben, doch bietet sie der Kritik einige Angriffspunkte. Erstens ist es auffallend, daß die Aufnahme derjenigen Stoffe, die zum physiologischen Haushalt der Zelle gehören (Nährstoffe, Salze) auf diesem Wege nicht erfolgen kann und besondere Hilfsannahmen erforderlich macht. So betont Höber, ein eifriger Verfechter und Kontinuator der Lipoidtheorie, daß „für die lipoidlöslichen Stoffe jede Zelle zu jeder Zeit durchlässig ist, daß aber für die lipoidunlöslichen die Zellen bald offen, bald geschlossen sind, die einen mehr, die anderen weniger“ und unterscheidet somit eine „passive, physikalische“ von einer „aktiven, physiologischen“, regulierbaren Permeabilität. Nathanson suchte das Dilemma dadurch zu lösen, daß er folgende hypothetische Vorstellung vom Aufbau der Plasmamembran zur Diskussion stellt: die Membran ist protoplasmatisch und vermittelt als solche den Import von Wasser und fettunlöslichen Stoffen, die Interstien zwischen den Protoplasmateilchen sind von einer fettartigen, nicht quellbaren Substanz ausgefüllt, die die Aufnahme von lipoidlöslichen Stoffen ermöglicht. Dabei macht N. die für die Lipoidtheorie sehr wichtige Bemerkung, daß gequollenes Lezithin auch Sulfosäurefarbstoffe aufzunehmen vermag, daß daher der postulierte fettartige Stoff, wenn er die elektive Aufnahme der lipoidlöslichen Substanzen erklären soll, so wie Cholesterin nicht quellbar sein darf. Doch auch diese auf den ersten Anblick geistreiche und bestechende Vorstellung kann, ganz abgesehen von ihrem hypothetischen, unkontrollierbaren Charakter, kaum befriedigen, denn, wie Ruhland mit Recht bemerkt, ist es nicht einzusehen, weshalb dann die lipoidunlöslichen nicht aufnehmbaren Stoffe nicht ihren Weg mit dem Wasser durch die protoplasmatischen Anteile der Plasmamembran nehmen. Andererseits aber könnten bei dem von N. entworfenen Aufbau der Plasmahaut die basischen Farbstoffe Dank ihrer Wasserlöslichkeit einfach durch die protoplasmatischen Anteile hineinwandern. Dann würde also die Annahme der Fettinterstition überflüssig. Außerdem zeigte Ruhland, daß intakte Cholesterinmembranen, ebenso nicht gequollene Lezithin- oder Lezithincholesterinmembranen überhaupt keine Farbstoffe permeieren lassen, die letzteren in gequollenem Zustand aber alle Farbstoffe ohne Ausnahme. Das Dilemma die Permeabilität sowohl

der lipoidlöslichen als auch der lipoidunlöslichen Stoffe sowie ihre Eigentümlichkeiten restlos zu erklären, ist bis jetzt noch nicht gelöst — das ist der Schluß, zu dem Ruhlands kritische Ueberlegungen führen.

Doch auch nach der tatsächlichen Seite hin bringen Ruhlands Versuche Beobachtungen, die zur Overtonschen Auffassung der Vitalfärbung nicht gut passen wollen. Die Sätze: lipoidlösliche Farbstoffe sind Vitalfarbstoffe — ohne Lipoidlöslichkeit keine Vitalfärbung, lassen sich nicht voll aufrecht erhalten. Von basischen Farbstoffen werden die schwer lipoidlöslichen Malachitgrün und Thionin und das lipoidunlösliche Methylengrün schnell aufgenommen, das gut lipoidlösliche Rhodamin sehr langsam. Von sauren Farbstoffen werden die sauren Phthaleine (Cyanosin, Erythrosin, Rose bengale, Gallein) trotz ihrer Lipoidlöslichkeit ebenso wenig aufgenommen, wie die lipoidunlöslichen Phthaleine, Eosin und Phloxin. Auch unter den Sulfosäurefarbstoffen findet Ruhland einige (Wollviolett S, Tuchrot 3 G A, Echrot A, Oxaminmarron), die trotz Lipoidlöslichkeit keine Vitalfärbung von Spirogyren und anderen pflanzlichen Objekten geben.

Im Anschluß an sehr interessante Untersuchungen über die Wirkung oberflächenaktiver Stoffe auf die Exosmose von Gerbstoffen aus der Pflanzenzelle entwickelt Czapek eine Theorie über den Aufbau der Plasmahaut, die natürlich für die Fragen der Stoffaufnahme von Bedeutung ist. Er findet, daß die kritischen Konzentrationen einer Reihe von Substanzen, die eben den Austritt beginnen lassen, eine relative Oberflächenspannung von 0,68 aufweisen und folgert daraus, daß auch die Oberflächenspannung der Plasmahaut ungefähr diesen Wert repräsentiert. Denselben Wert zeigen aber auch gesättigte Emulsionen von Neutralfetten (Triglyzeriden ungesättigter Fettsäuren), und das „legt ihm den Gedanken nahe, daß der Hauptfaktor beim Zustandekommen der normalen Oberflächentension der Plasmahaut durch die Gegenwart von ungesättigten Triglyzeriden gebildet wird“. Nach dem Gibbsschen Theorem müssen solche Stoffe an freien Oberflächen angereichert werden, und so faßt nun Czapek die Plasmahaut als Emulsion von Neutralfetten in Eiweißkolloiden auf, die durch kleine Mengen von Seife als Schutzkolloid in Emulsion gehalten werden. Auf diese Weise glaubt C. sowohl der Aufnahme von lipoidlöslichen als auch derjenigen von lipoidunlöslichen Stoffen gerecht zu werden. Wichtig ist, daß für manche Zellen auf Grund toxikologischer Untersuchungen noch niedrigere Oberflächentensionswerte sich ergeben (so für Hefezellen oder Erythrocyten 0,60—0,58), und hier ist C. geneigt, eine Beteiligung der stärker oberflächenaktiven Lipide, Lecithin und Cholesterin am Aufbau der Plasmahaut in den Vordergrund zu rücken — was vielleicht auch für Bakterien zu erwägen wäre¹⁾.

In den letzten Jahren hat der Stand der Permeabilitäts- und Vitalfärbungsfrage durch neue Untersuchungen eine sehr bedeutsame Verschiebung erfahren. Seit den Untersuchungen von Chrzonszczewsky und Heidenhain war die Ausscheidung von indigschwefelsaurem Natrium durch die Niere vielfach studiert worden, und eine Reihe weiterer Untersuchungen zeigte, daß auch eine Reihe anderer saurer lipoidunlöslicher Farbstoffe (Säurefuchsin, Kongorot, wasserlösliches Anilinblau, Bordeaux) dazu befähigt ist. Dabei werden die betreffenden Farbstoffe in bestimmten Abschnitten der Harnkanälchen in Vakuolen zuerst gespeichert

¹⁾ Nicht unbemerkt mag bleiben, daß in letzter Zeit die Oberflächenspannungshypothese von Czapek ebenso wie einige ihrer tatsächlichen Grundlagen von Vernon beanstandet werden.

und dann ausgeschieden. Diese Untersuchungen sind nun in neuerer Zeit von Höber und Kempner, Höber und Chassin, Höber, sowie Höber und Nast auf eine ganze Reihe saurer, meist lipoidunlöslicher Farbstoffe ausgedehnt, und haben sehr interessante, wenn auch noch nicht ganz klare Resultate ergeben. Es scheint nämlich ein, wenn auch nicht durchgehender Zusammenhang zwischen der Ausscheidbarkeit (und Aufnehmbarkeit in die Nierenzellen) und dem kolloidalen Charakter der betreffenden Farbstoffe zu bestehen¹⁾, der von Höber folgendermaßen charakterisiert wird: „1) Wenn ein Farbstoff wenig bzw. nicht kolloidal ist, so wird er von den Nierenzellen leicht aufgenommen. 2) Wenn ein Farbstoff hydrophil-kolloidal ist, so wird er ebenfalls leicht aufgenommen. 3) Wenn ein Farbstoff von den Nierenzellen nicht oder schwer aufgenommen wird, dann ist er suspensinkolloidal; dieser Satz gilt aber nicht umgekehrt.“ Der kolloidale Charakter von Farbstofflösungen ist in ausgesprochenen Fällen leicht festzustellen, in anderen gehen die Meinungen darüber bei verschiedenen Forschern zum Teil weit auseinander. Höber untersuchte ihn erstens durch Fällungsversuche mit CaCl_2 und NiCl_2 , zweitens durch Dialyseversuche und drittens mit dem Ultramikroskop und erhielt dabei nicht immer ganz übereinstimmende Resultate. Jedenfalls beweisen diese Untersuchungen, daß bei dieser „Vitalfärbung“ ganz andere Eigenschaften der Farbstoffe maßgebend sind, als die von Overton in den Vordergrund gestellte Lipoidlöslichkeit.

Diese letztere ist von vornherein ganz ausgeschlossen bei einer Reihe von sulfosauren Farbstoffen, die sich vom Benzidin oder ähnlichen Diaminen herleiten. Nachdem Ehrlich zuerst das Benzopinpurpin als Vitalfarbstoff erkannt hatte, konnten Nicolle und Mesnil 1906 anlässlich von chemotherapeutischen Versuchen eine Anzahl von Benzidinfarben ihm anreihen. Diese Beobachtungen wurden in den letzten Jahren von Goldmann weiter verfolgt und zur Grundlage äußerst interessanter und wichtiger Untersuchungen über verschiedene physiologische und pathologische Probleme gemacht. G. verwendete drei Farbstoffe: Trypanrot, Trypanblau und Isaminblau (Pyrrolblau), ihnen hat jüngst Schulemann in ausgedehnten Untersuchungen eine bedeutende Anzahl verwandter Farbstoffe an die Seite gestellt. Man kann hier bei verschiedenen Nagern zum Teil sehr intensive Vitalfärbungen erzielen, die fast ausschließlich auf gewisse Zellen (Bindegewebszellen und Makrophagen als sogenannte „Pyrrolzellen“ — daneben noch manche Drüsenzellen) oder richtiger auf Granula innerhalb bestimmter Zellarten beschränkt sind. Was den Mechanismus der Aufnahme dieser Farben betrifft, ist Schulemann auf Grund interessanter Versuche zu dem Schluß gelangt, daß „nicht vitalfärbende Substanzen Suspensionskolloide sind, vitalfärbende hydrophile Kolloide. Das Vitalfärbungsvermögen einer Substanz ist nur indirekt abhängig von der chemischen Konstitution; diese bedingt einen bestimmten physikochemischen Charakter der Farblösungen, durch den die Substanz resorbierbar wird“. Bezüglich der Speicherung der Farben in den Zellen nimmt S. in Übereinstimmung mit Goldmann an, daß sie von einem „Reaktionskörper“ bedingt wird, der eine Fetteiweißverbindung sein soll. Ueber die Art der Bindung spricht sich S. dahin aus, daß physikalische oder physiko-chemische Vorgänge (Adsorption, Ausflockung) auszuschließen sind, und daß wahrscheinlich eine chemische Bindung (Farblackbildung?) zustande kommt.

1) Schon Ehrlich hat seinerzeit diesen Zusammenhang vermutet.

Auch sonst hat auf histologischem Gebiet die Lipoidhypothese von namhaften Forschern Ablehnung erfahren, so z. B. von M. Heidenhain, nachdem sie „für den Mikroskopiker gar keine Wahrscheinlichkeit hat, da das Nervenmark, welches außer dem sogenannten Neurokeratin fast nichts anderes enthalten dürfte, als die in Rede stehenden Lipoide, bei den Vitalfärbungen, insbesondere der klassischen Methylenblaufärbung, sich eigentlich überhaupt nicht tingiert“. Auch in dem färberischen Verhalten der Lachspermatozoen, deren lipoidärmere Köpfe sich mit basischen, dagegen die lipoidreicheren Schwänze mit sauren Farbstoffen färben, erblickt H. ein Argument gegen die besprochene Hypothese¹⁾.

Eine ähnliche Umwälzung hat auf botanischem Gebiet die Arbeit von Küster inauguriert. Während die bisher besprochenen Arbeiten meist an Rasiermesserschnitten, an isolierten Epidermisstücken oder an Fadenalgen angestellt wurden, versuchte Küster die Farbstoffaufnahme unter mehr natürlichen Bedingungen vor sich gehen zu lassen, indem er größere Sproßstücke oder gestielte Blätter in die Farbstofflösungen eintauchte. Diese geänderte Technik zeitigte denn auch unerwartete und sehr wichtige Resultate, indem eine große Reihe bisher als impermeabel geltender saurer Farbstoffe sich doch als vitalfärbend erwies. Es scheint, daß vitale Vorgänge, vor allem die Atmung der pflanzlichen Organe, für den Farbenimport von großer Bedeutung werden können. Auf Grund seiner Beobachtungen ist Küster nicht geneigt, die Lipoidtheorie zur Erklärung der Vitalfärbung heranzuziehen, auch will er die Unterscheidung einer „physikalischen“ und „physiologischen“ Permeabilität nicht gelten lassen, dagegen findet er einen ausgesprochenen Zusammenhang zwischen Kolloidität und Permeabilität der Farbstoffe, indem in seinen Versuchen nur wenig oder nicht kolloidale Farbstoffe permeieren, nicht aber hochkolloidale.

Im Anschluß an diese Untersuchungen hat dann Ruhland mit der Küsterschen Methodik eine große Anzahl (29 basische und 90 saure) auf ihr Vitalfärbungsvermögen untersucht. Von 29 basischen Farbstoffen permeierten 26 (die drei negativen sind: Nachtblau, Viktoriablauf B und 4R und Basler Blau) — von 90 sauren 43. Auf der Suche nach denjenigen Eigenschaften, die einen Farbstoff zu einem Vitalfarbstoff machen, fand R., daß zwar der Kolloiditätsgrad (beurteilt nach der Fällbarkeit durch CaCl_2 oder NiCl_2 , nach der Diffusibilität gegen Wasser, nach der Kapillardiffusion oder nach der ultramikroskopischen Auflösbarkeit) im großen und ganzen der Permeabilität antiparallel ist, daß jedoch auch hier und da Ausnahmen vorkommen. Eine restlose Übereinstimmung fand sich dagegen, als Ruhland die Diffusion der Farbstoffe in Gelen (Agar, Gelatine) untersuchte. Diejenigen basischen und sauren Farbstoffe, die zur Diffusion in Gelen befähigt erscheinen, färbten vital — auch der Grad der Geldiffusibilität geht meist mit demjenigen der Permeabilität parallel. Unter der Annahme, daß alle Farbstofflösungen kolloidale Lösungen darstellen (ob immer?), folgert nun R. aus seinen Befunden, daß „die lebende Zelle sich demnach vermöge ihrer semipermeablen Plasmahaut gegenüber Kolloiden wie ein mit hohen Drucken arbeitendes Ultrafilter verhält“. Die dabei über die Aufnehmbarkeit entscheidende Teilchengröße der Kolloide, d. h. ihr Dispersitätsgrad, „steht weder zur Atom-

1) Auch Garmus (Pflügers Arch. Bd. 58. 1912) findet in seinen schönen Färbungsversuchen an Drüsenzellen des Frosches keinen Zusammenhang zwischen Lipoidlöslichkeit und Vitalfärbungsvermögen. (Anm. während der Korr.)

zahl, noch zum Molekulargewicht oder der Zahl der Benzolkerne, immer in einer direkten Beziehung“. Die Speicherung der Farbstoffe in der Zelle erfolgt nach Ruhland bei basischen und bei sauren Farbstoffen in verschiedener Weise. Die ersten reagieren chemisch mit sauren Inhaltsstoffen der Zelle (meist hochmolekulare organische Säuren), die sauren erleiden nur physikalisch durch Einwirkung der Zellsaftkolloide eine Erniedrigung der Dispersität und werden ausgeflockt. Ähnlich wie Küster verhält sich auch Ruhland auf Grund seiner Ergebnisse ablehnend zur Lipoidtheorie und meint, der Anteil der Lipide am Aufbau der Plasmahaut sei fraglich, zum mindesten aber unbewiesen. Als sehr bedeutsam möchte ich noch die Auffassung von R. erwähnen, daß auch der Individualität der Plasmahaut eine größere Beachtung zu schenken ist, da z. B. bei tierischen Objekten manche hochkolloidale Farbstoffe sich noch als permeabel erweisen, die in pflanzliche Objekte nicht eindringen. Es müßte demnach die Plasmahaut tierischer Zellen weitere Poren besitzen, als diejenige pflanzlicher.

Haben schon die Resultate dieser verschiedenen Versuche die Zulässigkeit der Overtonschen Erklärungsweise stark erschüttert, so sind wieder die neuesten, sehr wichtigen Untersuchungen von Loewe, falls sie Bestätigung finden, dazu angetan, die physikalisch-chemische Grundlage der Lipoidtheorie einer prinzipiellen Revision zu unterziehen. Hatten Overton und seine Nachuntersucher immer von einer Löslichkeit von Farbstoffen in Lipoiden gesprochen und die Verteilungsvorgänge zwischen wässriger und Lipoidphase als dem Henryschen Satz folgend betrachtet, so zeigt L. zunächst, daß die Lösungen von Lipoiden in organischen Lösungsmitteln als kolloide Lösungen betrachtet werden müssen, wodurch natürlich an den Lipoiden neben ihrer chemischen Eigenart vor allem ihre Kolloidfunktionen für biologische und biochemische Probleme in den Vordergrund treten. Sodann wird gezeigt, daß die Aufnahme von Farbstoffen sowie Narkotica in die Lipoidphase keinen Lösungs-, sondern einen Adsorptionsvorgang darstellt, was mit der Kolloidnatur der Lipoidlösungen am besten harmonisiert. Nur dem Cholesterin kommt eine Sonderstellung zu, indem es ein Semikolloid bildet, das starke Neigung zu echter Lösung aufweist: die übrigens sehr beschränkte Farbstoffaufnahme in seinen Lösungen dürfte zum großen Teil auf echter Verteilung beruhen. Wenn die interessanten Resultate und Anschauungen Loewes auch weiterhin Bestätigung finden, so werden wir natürlich auch die von Overton und anderen beobachteten Tatsachen umdeuten müssen. Dies um so mehr, als ja in den Zellen bzw. der Plasmahaut die Lipide doch kaum in einem Zustand enthalten sind, der mit demjenigen einer Benzollösung direkt vergleichbar wäre. Sind sie aber, wie anzunehmen ist, zum großen Teil in gequollenem Zustand da, so werden natürlich die Aufnahmevorgänge noch um so mehr einer Adsorption gleichzustellen sein, wie ja auch für den Hauptbestandteil des Plasmas und der Plasmahaut, die Eiweißkolloide, fast allgemein angenommen wird. Für die Erkenntnis der Farbstoffaufnahme aber gewinnen dadurch die Speicherungsversuche Overtons mit gequollenen Lipoiden eine größere Bedeutung als seine Ausschüttelungs- und Lösungsversuche.

Wenn wir nun auf unserer etwas weitläufigen Exkursion in das Gebiet der Vitalfärbung einen Blick zurückwerfen, so sehen wir, daß die auf den ersten Anblick so bestechende Hypothese von Overton kaum mehr haltbar ist oder zum mindesten so weitgehender und wichtiger Einschränkungen und Ergänzungen bedürfen würde, daß ihr eigentlich

nur mehr historischer Wert im Hinblick auf die durch sie geförderte Vertiefung der Probleme und den Ausbau des Tatsachenmaterials zukommt. Als Gesamtergebnis der an verschiedensten Objekten ausgeführten Versuche würde sich ergeben, daß basische Farbstoffe fast ausnahmslos von den Zellen aufgenommen werden, von den sauren aber nur diejenigen, deren kolloidaler Lösungszustand sie dazu befähigt. Ob die nicht vital färbenden Farben tatsächlich nicht aufgenommen werden oder ob sie nur aus bestimmten Gründen nicht speicherungsfähig sind, müssen weitere, eventuell auf neue Methoden gestützte Untersuchungen entscheiden. Für die Tatsache, die, wie wir gesehen, in grober Annäherung sich feststellen läßt, daß basische Farbstoffe fast durchgehends, saure nur in einem Bruchteil vital färben, wäre vielleicht im Hinblick auf die Arbeiten von Loewe der Grund darin zu suchen, daß nach Freundlich die chemische Konstitution für Adsorbierbarkeit vieler Stoffe von Bedeutung ist. Mäßig oder schwach dissoziierte organische Säuren und Basen werden mittelstark oder stark adsorbiert. Einführung von Halogenen oder von Nitrogruppen soll die Adsorbierbarkeit etwas steigern, diejenige von Sulfogruppen beträchtlich verringern ($\frac{x}{m}$ für Blutkohle

und $c = 0,01$ beträgt für Anilin 2,40, für Sulfanilsäure 0,72). Auch im allgemeinen für die Beurteilung der Permeabilität werden diese Beziehungen, auf die wir noch zurückkommen werden, wahrscheinlich uns manchen Aufschluß geben können (Neutralsalze, Schwermetallsalze, Zucker). Damit wird vielleicht auch eine Brücke geschlagen zu den interessanten Versuchen von Traube, die Aufnahme und Wirksamkeit vieler Substanzen mit ihrer Oberflächenaktivität in Zusammenhang zu bringen. Auch wäre es angezeigt, weitere Untersuchungen über die Adsorbierbarkeit verschiedener Substanzen, sollen sie uns biologisch verwertbare Aufschlüsse liefern, an Lipoideiweißgemischen zu machen, wodurch man den natürlichen Verhältnissen der Stoffaufnahme in Zellen nahekäme.

Was unsere Vorstellungen über den Aufbau der Plasmahaut betrifft, so ist wohl die Annahme einer reinen Lipoidhaut kaum mehr aufrecht zu erhalten. Es bleibt also die Wahl zwischen denen, die die Existenz einer Membran überhaupt in Abrede stellen und die Permeabilitätsverhältnisse nur auf die chemischen und Adsorptionsaffinitäten des Protoplasmas zurückführen (Moore und Roaf) und denen, die eine Plasmahaut als eine die Permeabilitätserscheinungen beherrschende Grenzmembran der Zelle postulieren. Da nun die Lipide in fast allen Organismen als Zellbestandteile vorkommen, wird es wohl am naheliegendsten sein, auch in der Plasmahaut neben Eiweißstoffen Lipide anzunehmen. Um die Lipoidtheorie mit der Gesamtheit der Erscheinungen der Stoffaufnahme in Einklang zu bringen, hat Nathanson die oben wiedergegebene Annahme einer Mosaikstruktur gemacht, in derselben Absicht läßt T. Brailford Robertson die Plasmahaut als dünne, optisch homogene, wenig lösliche Eiweißmembran erscheinen, unter der in vielen Fällen eine nicht zusammenhängende Lipoidschicht liegen kann. Einfacher als diese Vorstellungen wäre wohl diejenige einer innigen Verbindung von Eiweiß und Lipiden — entweder physikalischer (Adsorption) oder chemischer (Lipoproteide) Natur, wie sie ja auch wahrscheinlich im Protoplasma vorliegt, wobei möglicherweise der Lipoidanteil in der Plasmahaut oder im Ektoplasma größer sein könnte als sonst im Protoplasma (Botazzi und Czapek). Es wäre dann natürlich ebenso für die Möglichkeit einer Aufnahme von „lipoidlöslichen“ als auch „lipoidunlöslichen“ Stoffen ge-

sorgt — der Mechanismus dieser Aufnahme wäre in manchen Fällen (Wasser, manche Salze) als einfache Diffusion, in anderen als Ultrafiltration bzw. Adsorption aufzufassen. Im Sinne dieser Anschauungen ist das große Beobachtungsmaterial, betreffend die sogenannte Lipoidlöslichkeit der Farbstoffe, kaum mehr zu verwerten — eher schon die Versuche Overtons über die Speicherung durch gequollene Lipoide. Vor allem aber wäre es erwünscht, die Versuche von Ruhland über die Geldiffusion, die sich mehr an natürliche Verhältnisse anlehnen, weiter auszudehnen und zu variieren, oder die Fragen an Zellmodellen zu untersuchen, wozu von Pascucci sowie von W. H. Fischer seinerzeit vielversprechende Anfänge gemacht wurden. Natürlich wären dabei vor allem die kolloidalen Eigentümlichkeiten eines Lipoideiweißgemisches (Verbindung?) im Auge zu behalten. Ein wichtiger Punkt, der bei der Behandlung der Vitalfärbungsprobleme immer zu berücksichtigen wäre, ist die Individualität der untersuchten Objekte, die jede zu weit gehende Verallgemeinerung der an einem Objekte gewonnenen Anschauungen als bedenklich erscheinen läßt. Erythrocyten oder Elemente des Nervensystems mit ihrem großen Lipoidgehalt können wohl unmöglich ohne weiteres mit pflanzlichen Zellen oder mit Bakterien analogisiert werden, wenn auch manche Aehnlichkeiten bestehen können. Auch wird die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen kaum sich mit einer einzigen Eigenschaft der aufzunehmenden Stoffe restlos erklären lassen, sondern man wird wohl mancherlei Eigenschaften sowohl der Farbstoffe als auch der aufnehmenden Zellen zur Erklärung heranziehen müssen.

Ueber die Vitalfärbung von Bakterien.

Und nun zurück zu unserem Ausgangspunkt, zur Vitalfärbung der Bakterien! A priori möchte es sehr verlockend erscheinen, gerade an solchen relativ einfachen Gebilden diese Fragen zu studieren, die zudem keine besonderen Beobachtungsmethoden zur Feststellung des Färbungseffektes erfordern. In Wirklichkeit stellen sich jedoch solchen Untersuchungen gerade hier mancherlei Schwierigkeiten entgegen. Wir sahen oben, daß in pflanzlichen und tierischen Zellen nur gewisse besondere Bestandteile (Granula, Gerbstoffe, Bestandteile des Zellsaftes) die Fixierung der Farbstoffe besorgen — bei Bakterien werden derartige Substanzen teils vermißt, teils ist vielleicht die Bakterienzelle oft zu klein, als daß man solche Bestandteile ohne starke spezielle Färbung gut unterscheiden könnte. Besondere Schwierigkeiten bereitet ein Punkt, der wie oben schon hervorgehoben, auch sonst oft Zweifel aufkommen läßt, die Feststellung der Lebendfärbung. Ein allgemeingültiges morphologisches Kennzeichen des Lebens gibts ja auch bei Bakterien nicht, und die Procasche Färbung, die lebende Bakterien von toten unterscheiden soll, ist ja, selbst wenn sie einwandfrei arbeiten sollte (s. Steinschneider), für unseren Zweck nicht verwendbar. Von biologischen Kennzeichen des Lebens wäre vor allem die Beweglichkeit mancher Bakterienarten zu berücksichtigen. Doch auch hier drängen sich manche Bedenken auf; läßt man Farbstoffe auf bewegliche Bakterien einwirken und wird die Bewegung von einem Individuum eingestellt, so ist bei der Empfindlichkeit dieser Funktion ein Schluß auf ein Absterben des Individuums kaum gestattet, allerhöchstens kann eine gewisse Schädigung vermutet werden. Es bliebe also als beweiskräftig nur der Fall, daß ein gefärbtes Bakterium sich ungestört weiter bewegt, zu verwerten. Auch die Feststellung der Lebensfähigkeit eines Bakteriums durch Kultur

ist nicht ohne weiteres zu verwenden. Die globale Feststellung, wie sie einigemal in der Literatur sich vorfindet, daß von einer mit Farbstoff versetzten Kultur oder Aufschwemmung noch mit Erfolg weitergeimpft werden kann, beweist ja nur, daß lebende Keime darin überhaupt vorhanden waren, wäre also für uns nur dann maßgebend, wenn alle darin enthaltenen Keime sich auch gefärbt hätten, was schwer mit Sicherheit festzustellen ist. Es blieben also zwei Wege offen: erstens die individuelle Feststellung der Fortpflanzungsfähigkeit eines gefärbten Bakteriums, dafür aber reichen unsere gegenwärtigen Methoden nicht aus, selbst die Burrische ist nur bei manchen Arten anwendbar, und auch in diesem Fall keimen ja nicht alle Zellen vielleicht infolge von Schädigung durch das Verfahren selbst, anderseits aber werden bereits gefärbte Bakterien beim Tuscheverfahren meist entfärbt. Zweitens aber könnte man versuchen, in einer mit Farbstoff versetzten Kultur oder Aufschwemmung in gewissen Zeitabständen einerseits mikroskopisch die Anzahl der gefärbten Individuen, anderseits kulturell das Vorhandensein bzw. den Umfang einer Schädigung durch den Farbstoff festzustellen. Ließe sich etwa feststellen, daß die Schädigung eine geringe oder zu vernachlässigende ist und die Zahl der gefärbten Individuen eine beträchtliche, so wäre ein solcher Befund im Sinne der Vitalfärbbarkeit zu verwenden, jedoch nur unter Berücksichtigung folgender Tatsache. Bekanntlich gibt es in 20–24-stündigen Kulturen vieler Mikroorganismen, die ja im täglichen Laboratoriumsgebrauch als „jung“ gelten, bereits viele geschädigte und abgestorbene Individuen. Da nun gerade diese, wie wir gleich sehen werden, leicht färbbar sind, während voll lebenskräftige Individuen der Färbung einen Widerstand entgegensetzen, könnten in einer älteren Kultur die ersten sich färben, und da sie auch sonst nicht vermehrungsfähig sind, keinen Ausfall in der Keimzahl bei der Kontrolle bedingen, während die kräftigeren, widerstandsfähigeren Individuen ungefärbt und unbeeinflusst bleiben könnten. Es wird also der oben besprochene Versuch nur dann Beweiskraft beanspruchen können, wenn er an wirklich jungen (6–10-stündigen) Kulturen ausgeführt, in denen die Zahl der abgestorbenen oder stark geschwächten Individuen eine sehr geringe ist. Derartige Versuche gedenke ich in nächster Zeit auszuführen.

Was nun die Resultate der direkten Beobachtung betrifft, so weisen die Bakterien gewisse Eigentümlichkeiten auf, die an sonstigen Objekten der Vitalfärbung nicht vorkommen. Gewöhnlich wird ja die Vitalfärbung isolierter Organismen oder ihrer Teile mit Hilfe von äußerst verdünnten Farbstofflösungen ausgeführt ($1/100000$ bis $1/1000000$), um toxische Wirkungen auszuschalten. Mit solchen Lösungen, oft auch mit noch stärkeren, ist bei Bakterien wenigstens in kurzer Zeit nichts zu erlangen, und eine Ausdehnung solcher Versuche auf längere Zeiträume ist nicht statthaft, wenn die Färbung in wässriger Lösung erfolgt, da ja dann erfahrungsgemäß immer mehr Bakterien schon in reinem Wasser geschädigt werden und absterben. Verwendet man stärkere wässrige Farbstofflösungen (etwa 0,1–10-prom.), so variiert das Resultat je nach der tinktoriellen Kraft und toxischen Wirksamkeit des Farbstoffs. Bei beweglichen Bakterien sieht man meist Einstellung der Bewegung und dann fortschreitende Färbung der einzelnen Individuen. Zuerst sind es einige wenige, dann immer mehr, endlich alle oder fast alle. Das gilt für basische Farbstoffe, die fast alle (soweit untersucht) die Bakterien auf diese Weise wahrscheinlich „postvital“ oder „supravital“ färben. Was Schnelligkeit und Intensität der Färbung anbelangt, gilt die schon oben

besprochene Differenz, daß grampositive Arten (auch Meningo- und Gonokokken, wahrscheinlich auch andere gramnegative Kokken und Sarcinen) sich schneller und intensiver anfärben, als gramnegative. Ist das Bakterium aber einmal gefärbt so hört jede Bewegung auch lebhaft beweglicher Bakterien auf.

Eine besondere Besprechung verdienen einige von den basischen Farbstoffen. Mit Rücksicht auf die negativen Erfolge von Ruhland sei bemerkt, daß Nachtblau, Viktoriablau B und 4 R sowie Baslerblau sehr intensive und prompte Färbung geben (mit schöner Differenzierung grampositiver und gramnegativer Arten), wenn also auch der „vitale“ Charakter dieser Färbung zweifelhaft ist, so muß doch Permeabilität diesen Farbstoffen zugesprochen werden. In Uebereinstimmung mit den Befunden von Overton sowie Ruhland fand ich, daß Rhodamin B nur sehr schwer permeiert — und selbst bei längerer Färbung in schwächeren Lösungen auch bei grampositiven Arten versagt — erst in 2–4-proz. Lösungen erfolgt mäßige Färbung (Differenzierung unsicher!) — wir haben hier also auch in dem Färbungsvermögen einen Uebergang zu den sauren Phthaleinen, wie er in der Konstitution dieses Farbstoffs gegeben erscheint. Eine kaum merkbare Färbung gibt selbst in 1-proz. Lösung Methylgrün. Durch Zusatz von Alkali wird die Färbung etwas deutlicher, sie ist nur an grampositiven Arten zu erzielen. Damit stimmen die Ergebnisse, die (wahrscheinlich an fixiertem Material) A. Fischer sowie Unna erhalten haben. Der erste schildert als mit Methylgrün färbbar: *B. anthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *B. proteus* (ein grampositiver Stamm!), *B. subtilis*, lauter grampositive Arten, der zweite berichtet über schwache bis mäßig starke Färbung einer Reihe von Kokken aus Eiterungen sowie Ekzemen und von Gonokokken. Ob diese schwache Färbung auf die Reduktionskraft der Bakterienleiber zurückzuführen ist, die den sehr empfindlichen Farbstoff zum Leukoprodukt entfärbt (Unna), bleibt noch zu ermitteln.

Was die sauren Farbstoffe anlangt, ist mit der überwiegenden Mehrzahl auf diese Weise keine Färbung zu erzielen, jedenfalls mit keinem Sulfocfarbstoff. Eine Ausnahme bilden zwei Farbstoffgruppen: die Nitrofarbstoffe und die sauren Phthaleine. Von den ersten gaben Aurantia sowie Pikrinsäure positive Resultate — das erste gibt eine ganz deutliche Orangefärbung, die zweite eine schwache Gelbfärbung — beide unter deutlicher Bevorzugung grampositiver Arten. An fixiertem Material gibt Aurantia in Form der von mir angegebenen Aurantia-Methylviolettmethode eine Färbung des Bakterienleibs, wiederum prägnanter bei grampositiven Arten, als bei gramnegativen. Um bei schwachen Farbstoffen, wie die Pikrinsäure, zum Ziel zu gelangen, muß man oft einen kleinen Kniff anwenden: da die schwache Färbung vom ebenso gefärbten Milieu nur ganz undeutlich sich abhebt, beobachtet man am besten das Resultat der Färbung an Bakterien, die inmitten zufällig hineingeratener oder absichtlich erzeugter Luftblasen sich befinden. Hier ist auch schwache Färbung auf farblosem Grund gut zu erkennen. Beim Martiusgelb konnte ich keine Färbung erreichen, wohl wegen des schwachen Farbgehaltes der gesättigten Lösung ($1/2000$) und der geringen Farbstärke. Alle Fluoresceinderivate färben ebenfalls postvital (Eosin, Phloxin, Rose bengale, Cyanosin, Chrysolin, Methyleosin), und zwar nur grampositive Arten, und auf dieser Tatsache habe ich meine Cyanochin-Methode aufgebaut. Diese Färbungen erfordern aber stark konzentrierte

Farbstofflösungen im Gegensatz zu denen mit basischen Farbstoffen, die auch aus schwachen Lösungen ($\frac{1}{1000}$ — $\frac{1}{10000}$) noch meist sich erzielen lassen, oder zu denjenigen mit den Nitrofarbstoffen, die ebenfalls noch aus Lösungen von 2—5 Prom. erfolgen können. Von anderen sauren Farbstoffen gaben Chromgrün (das eigentlich sich mehr den basischen Farbstoffen nähert trotz seiner Konstitution als Malachitgrünkarbonsäure) eine deutliche, Echtgrün eine schwache Färbung beide nur bei grampositiven Arten. Bei Gallein, Cörulein, Purpurin, Alizarincyanin und Alizarinblau S habe ich keine Färbung gesehen, doch dürfte dies Resultat keine prinzipielle Bedeutung beanspruchen angesichts der sehr schwachen Lösungen, die hergestellt werden können. Auch mit wasserlöslichem Corallin ($\frac{1}{200}$) hatte ich keinen Erfolg zu verzeichnen.

Auf ein Detail solcher „Vitalfärbungen“, das ich schon früher beschrieben habe (auch von A. Meyer und Grimme sowie von Nakanishi festgestellt), möchte ich hier noch einmal mit Nachdruck hinweisen. Es ist dies bei behutsamer Färbung mit sehr schwachen Farblösungen (indem man etwa ein Tröpfchen seitlich unter das Deckglas zufließen läßt) das Erscheinen eines stärker gefärbten Saumes um die Bakterien herum, der besonders bei grampositiven Arten sehr prägnant erscheint. Ich habe damals diesen Saum als sichtbaren Ausdruck des Ektoplasmas, d. h. einer physikalisch, vielleicht auch physiko-chemisch oder chemisch vom restlichen Zelleib irgendwie unterschiedenen Außenschicht (Ektoplasma) gedeutet. Dauert die Färbung länger oder erfolgt sie in stärkeren Farblösungen, so sieht man ein stark gefärbtes Gebilde vor sich, in dem meist fast keine Differenzierungen festzustellen sind. Ob dabei eine Durchfärbung des ganzen Bakteriums vor sich geht oder ob die Ektoplasmafärbung so intensiv wird, daß sie das Innere der Zelle unseren Augen entzieht, ist nicht zu entscheiden. Man könnte nun vielleicht versucht sein, in diesen Bildern die vielfach vergeblich versuchte tinktorielle Darstellung der Plasmahaut erreicht zu sehen, doch könnte ich mich einer solchen Deutung nicht anschließen, da nach den geltenden physikalisch-chemischen Anschauungen eine solche Grenzmembran nur eine molekulare Ausdehnung zu haben braucht und sich daher dem grobfärberischen Nachweis entzieht. Dagegen glaube ich, darin einen Hinweis auf die adsorptive Bindung der Farbstoffe durch das Ektoplasma (wie das Protoplasma überhaupt) erblicken zu dürfen im Sinne der schönen Versuche von Loewe. Dieser hat die Rolle einer hypothetischen Lipoidmembran beim Eindringen von Farbstoffen in Zellen an einem künstlichen Modell studiert, indem er auf farbstoffhaltige Gelatine eine Chloroformlösung von Lipoiden und darüber reines Wasser schichtete. Es zeigte sich an einer Reihe von sauren und basischen Farbstoffen, daß die Zwischenschaltung einer Lipoidmembran den Durchtritt der Farbstoffe entweder ganz hemmte (Methylenblau, Methylorange, Methylgrün, Viktoria-blau, Kongorot) oder merklich bis stark erschwerte (Orange G, Kristallponceau, Säurefuchsin). Dabei wird die Lipoidschicht mäßig bis stark gefärbt gefunden, speichert also die Farbstoffe. Daraus folgert Loewe, daß „wenn die Zellmembran nur aus Lipoiden bestände, so wäre dies für eine rasche und reichliche Färbung des Zellinneren nicht von Vorteil“. Auch Ruhland hat schon, wie oben erwähnt, Versuche mit nach Pascucci hergestellten Cholesterin- und Lecithinmembranen angestellt und gefunden, daß dieselben (die letzteren solange nicht gequollen) den Durchtritt von Farbstoffen in Wasser nicht gestatten, obwohl sie selbst dabei, zum Teil stark angefärbt werden. Nun ist freilich zu berücksichtigen,

daß nach den oben dargestellten Anschauungen eine reine Lipoidmembran kaum mehr in Betracht kommt und jedenfalls den Eiweißstoffen eine hervorragende wenn nicht maßgebende Rolle am Aufbau der Plasmahaut zukommen dürfte. Die Adsorptionsbindung von Farbstoffen durch eine solche Plasmahaut braucht natürlich nicht ganz irreversibel zu sein und kann teilweise einen Uebertritt der Farbstoffe ins Zellinnere ermöglichen. Wenn nun Ruhland meint: „Fäde wirklich in stärkerem Maße Adsorption durch die Plasmahaut statt, so müßte diese hierbei natürlich tief gefärbt werden, was niemals zu beobachten war“ — so wird diese Forderung zum Teil bei Bakterien erfüllt, wobei ich freilich nicht von der Plasmahaut als Grenzmembran, sondern vom Ektoplasma sprechen möchte. Daß dieser stärker färbbare Saum besonders bei grampositiven Arten gut darstellbar ist, glaube ich, wie schon früher ausgesprochen, auf Differenzen im Aufbau der Ektoplasmaschicht bei grampositiven und gramnegativen Arten zurückführen zu dürfen (größere Dichte oder stärkerer Lipoidgehalt oder andere Bindungsweise der Lipide?). Dafür sprechen auch nach meiner Ansicht die ebendasselbst mitgeteilten Resultate meiner besonderen Färbungsmethoden am fixierten Objekt (Aurantia-Methylviolettmethode u. a.).

Die hier dargestellten Verhältnisse der sogenannten „Vitalfärbung“ ändern sich bis zu einem gewissen Grade, wenn die Bakterien irgendwie geschädigt werden. Schon bei der Cyanochinmethode wurde berichtet, daß geschädigte Bakterien (z. B. vorher angetrocknete und dann aufgeschwemmte, durch verschiedene Gifte abgetötete oder mäßig erhitzte) eine veränderte Permeabilität aufweisen, indem grampositive jetzt eine stärkere Färbung aufweisen, gramnegative aber ihre plasmolytische Differenzierung nicht mehr zeigen und eine schwächere oder stärkere, aber eigentümlich matte Cyanosinfärbung annehmen. Auch bei der Tuschemethode geben nach Beobachtungen von mir sowie Sangiorgi geschädigte gramnegative Bakterien keine plasmolytische Differenzierung. Nicht permeablen Farbstoffen ist jedoch dadurch der Weg in die Bakterienzelle noch nicht eröffnet. Am fixierten Präparat kommen noch andere Momente dazu, die den Eintritt von Farbstoffen begünstigen — die gesteigerte Diffusion in das entwässerte Objekt und vielleicht auch eine erhöhte adsorptive Affinität der entquollenen Zellkolloide. Bechhold hat gezeigt, daß gut diffusible Farbstoffe (Methylenblau, Kristallviolett, Pikrinsäure, Aurantia, Gallein, Eosin) um so stärker färben, je dichter der zu färbende Stoff (Eisessigkollodium) ist, suspensionskolloidale dagegen desto schwächer (kommen für uns wenig in Betracht). Bei schonender Färbung der fixierten Bakterien (ohne Erhitzen oder Beizen) werden jedoch die nativen Prädilektionen für Farbstoffe gewahrt — erst wenn man zu diesen stärkeren Eingriffen Zuflucht nimmt, so kann man, wie ich früher gezeigt habe, auch mit vielen sonst wirkungslosen Säurefarbstoffen zum Teil recht intensive Färbungen erzielen. Manche geben freilich auch auf diese Weise keine rechte Färbung. Daß auch bei dieser Färbungsart die Unterschiede zwischen grampositiven und gramnegativen Arten im großen und ganzen gewahrt bleiben, beweist außer der Gramfärbung selbst und den verschiedenen von mir angegebenen Ersatzmethoden (mit basischen, sauren und neutralen Farbstoffen sowie Anilinschwarz) die oben schon erwähnte Beobachtung, daß man bei diskreter Färbung (kurze Färbedauer, schwache Farblösung) besonders mit dunklen basischen Farbstoffen ausgesprochene Intensitätsunterschiede zu sehen bekommt.

Eine andere Methode der Untersuchung von Bakterien auf Vitalfärbbarkeit ist diejenige durch Züchtung auf gefärbten Nährböden, sofern keine vollständige Entwicklungshemmung eintritt. Auch diese auf den ersten Anblick elegante und überzeugende Methode gibt jedoch zu prinzipiellen Bedenken Anlaß, sofern man eine wirklich und einwandfrei „vitale“ Färbung verlangt. Auch hier ist, und zwar aus denselben Gründen ebenso, wie bei der „Vitalfärbung“ in Farblösungen, der Beweis kaum zu erbringen, daß eine gefärbte Zelle noch im Besitze der ungeschmälernten Lebenskraft sich befindet oder es im Momente der Färbung war. Man sieht ja oft speziell bei den farbkräftigen dunklen Farbstoffen (auch bei den Fluoresceinderivaten), daß der Bakterienrasen, wenn man ihn etwa mit dem Spatel abhebt, ziemlich stark gefärbt ist. Beim Kristallviolett und Fuchsin in stärkeren Konzentrationen zeigt er zuweilen selbst den Metallglanz der Farbsubstanz. Auf schwach gefärbten Nährböden sieht man sogar oft eine Erscheinung, die auch von d'Abundo, Rozsahegyi, Gasser, Reitz, Signorelli sowie Krumwiede und Pratt festgestellt wurde und die ich „Kondensation“ benennen möchte. Der Nährboden ist mehr oder weniger entfärbt und der Belag hat scheinbar den Farbstoff an sich gezogen. Untersucht man mikroskopisch, so ergibt sich, daß in jungen Kulturen nur selten einzelne gefärbte Individuen sich vorfinden, und zwar meist nur an Konzentrationen, die nahe an die hemmende herankommen. Je älter die Kulturen werden, desto mehr gefärbter Individuen lassen sich beobachten, desto intensiver wird die Färbung der einzelnen Bakterien; in alten Kulturen kann die überwiegende Mehrzahl der Individuen Färbung aufweisen. Das gilt von denjenigen Farbstoffen, die auch in Lösung zu färben vermögen, und auch da bekommt man ausgesprochene Färbungen nur bei farbstarke Farbstoffen zu Gesicht. Die gefärbten Individuen sind, sofern es sich um gramnegative Arten handelt, oft sehr schön plasmolysiert, daneben sieht man in toto gefärbte geschrumpfte Individuen, endlich in stärkeren Konzentrationen teratologische Wuchsformen (Heteromorphosen) zum Teil ähnlich denjenigen, die auf salzhaltigen Nährböden von einer Reihe von Forschern (Hankin, Matzushita, Maassen, Gamaleia) beobachtet wurden, am öftesten sind es längere, zum Teil auch breitere Fäden mit plasmolytischer Zerklüftung des protoplasmatischen Inhalts, der ungleichmäßig gefärbt erscheint. Bei grampositiven Arten werden mit Ausnahme von Diphtheriebacillen solche Wuchsformen vermißt. Von den gramnegativen Arten neigen die einzelnen verschieden stark zu ihrer Bildung, und zwar geht diese Neigung annähernd proportional mit ihrer Empfindlichkeitsskala für die hemmende Wirkung der Farbstoffe. Am stärksten Cholera, Typhus, Dysenterie, dann Coli, Friedländer, Proteus, am wenigsten der Pyocyaneus oder Prodigiosus. Die plasmolytischen Bilder erscheinen vielleicht am schönsten gefärbt auf Nährböden mit Fluoresceinderivaten.

Was den „vitalen“ Charakter der so erhaltenen Färbungen betrifft, so glaube ich ihn aus einigen Gründen anzweifeln zu müssen. Zunächst sieht man, wie gesagt, an jungen Kulturen sehr wenig davon, und bei der Schnelligkeit, mit der wir sonst die Färbung bei guten Farbstoffen erfolgen sehen, ist nicht zu begreifen, daß erst paar Tage zur Erreichung einigermaßen befriedigender Färbungen notwendig sind. In dem Maße, als die Kultur altert und die Anzahl der geschädigten und abgestorbenen Keime zunimmt, wächst auch der Prozentsatz der gefärbten Individuen. Daß die Ueberimpfung einer derartigen Kultur noch positive Resultate

liefert, braucht nicht weiter aufzufallen, und beweist ebensowenig die Vitalität der gefärbten Individuen, als etwa die positive Uebertragungsfähigkeit einer sonstigen alten Kultur das Leben aller noch morphologisch sichtbaren Bakterien gewährleistet. Da der Farbstoffzusatz, besonders wo er sich dem Hemmungswert nähert, für die Bakterien nicht irrelevant ist, so werden in solchen Kulturen die Keime reichlicher und schneller degenerieren und damit zur Farbstoffaufnahme prädisponiert. In demselben Sinne spricht eine von mir noch vor 2 Jahren gemachte Beobachtung; bei einer Nachprüfung der Befunde von Vay fand ich, daß *B. typhi*, *paratyphi B*, *coli* auf 1‰ Dahli-Agar am ersten Tage des Wachstums meist noch ungefärbt wachsen und normale Wuchsformen aufweisen, und erst später treten die teratologischen Fadengebilde und die Färbung auf. Dies gilt für Beimpfung aus einer jungen Kultur; impft man dagegen aus einer älteren Agarkultur, so treten alle diese Erscheinungen früh ein und das Wachstum ist spärlicher.

Alles in allem soll ja damit die Möglichkeit einer rein vitalen Färbung wenigstens mit manchen wenig toxischen Farbstoffen nicht prinzipiell in Abrede gestellt werden. Was als Färbung bezeichnet werden soll, ist ja quantitativ nach unten zu schwer zu begrenzen. Ist ein Farbstoff auf Grund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften überhaupt zum Eintritt in die Bakterienzelle befähigt, so werden ja wahrscheinlich die ersten kleinsten Anteile in die lebendige Zelle eindringen. Wirken sie dort durch Bindung schädigend, so wird dadurch die Aufnahme noch gesteigert, und bei gewisser Sättigung des Protoplasmas mit dem Farbstoff hört zunächst die Vermehrungsfähigkeit, dann das Leben des Bakteriums auf.

Wieviel Farbstoff noch bei Lebzeiten der Zelle aufgenommen wird, und ob diese Menge bereits zur sichtbaren Färbung genügt, hängt im Einzelfall einerseits von seiner Permeabilität, andererseits von dem Verhältnis zwischen Toxizität (für das betreffende Bakterium) und Färbekraft ab. Zu einer ähnlichen Auffassung führen auch die Beobachtungen von Bokorny und anderen über die Vitalfärbung von Protozoen. Im großen und ganzen wird man wohl daran festhalten müssen, daß die Färbung für Bakterien in den allermeisten Fällen die Bindung eines Giftes bedeutet, die über kurz oder lang für die Zelle nicht folgenlos bleibt. Ist die Schädigung stark, so wird das Bakterium abgetötet oder in seiner Entwicklung gehemmt; ist sie schwach bemessen, so kann sie unter Umständen als Reiz wirken, wie das Auftreten von Mutationen in den Versuchen von Wolff, Seiffert sowie in meinen eigenen, noch nicht publizierten (Fuchsin, Kristallviolett, Methylenblau, Safranin, Chrysoidin) beweist. Auch möchte ich zu bedenken geben, daß in morphologischer Hinsicht der Wert der Vitalfärbung oft überschätzt wird. Wie schon oben angedeutet wurde, beweist das ungestörte Leben eines Tieres oder einer Pflanze nicht, daß einzelne „vital“ gefärbte Zellen oder Zellbestandteile auch lebend gefärbt wurden, ebensowenig, daß, was sich auf diese Weise färbt, vital präformiertes Gebilde ist — es kann ja an einer lebenden Zelle der Farbstoff gewisse, nicht lebenswichtige Bestandteile ausfällen und auf diese Weise „Pseudostrukturen“ erzeugen. Das gilt meines Erachtens auch von den Ergebnissen der Vitalfärbung der Bakterienzelle mit Methylenblau und Neutralrot, wie sie von Ružička und Ottolenghi versucht wurde (wobei übrigens der von letzterem geführte Nachweis der Vitalität der gefärbten Milzbrandstäbchen mir nicht absolut beweisend erscheint).

Worauf die aus all diesen Beobachtungen ersichtliche Resistenz des lebenden Bakteriums gegen Färbung zurückzuführen ist, läßt sich momentan nicht sicher entscheiden. Als Erklärungshypothese wäre vielleicht folgende Annahme zulässig: geringe Farbstoffmengen werden von der Bakterienzelle aufgenommen und zu Leukoprodukten reduziert; sie werden dadurch unsichtbar und teilweise entgiftet, wie weiter unten am Fuchsin gezeigt werden soll. Geht die Farbstoffaufnahme weiter, so daß das Reduktionsvermögen der Zelle erschöpft wird, kommt Färbung zum Vorschein und meist setzt auch eine Schädigung der Bakterien ein, die eventuell bis zur Abtötung fortschreiten kann. Im Sinne dieser Annahme würden einerseits die Reduzierbarkeit der Farbstoffe und ihre Abstufungen, andererseits das wechselnde Reduktionsvermögen der Bakterien bei den Problemen der Vitalfärbung und der Toxizität der Farbstoffe eine gewisse Bedeutung beanspruchen können.

Wenn wir in der Literatur nach Angaben über Vitalfärbung der Bakterien Umschau halten, so findet man sie nur sehr spärlich verstreut in der großen Menge von Berichten über Züchtung auf farbstoffhaltigen Nährböden zu differentialdiagnostischen oder biochemischen Zwecken. Die älteste — mehr als ein Vierteljahrhundert alt — stammt von Babes, der lebensfeuchte Bakterien zwischen Deckglas und Objektträger mittels schwacher Methylviolett B-Lösung färbt und diese Methode als sehr schonend und wahrheitsgetreu empfiehlt. Manche Bakterien sollen dabei trotz Färbung lebend und sogar beweglich bleiben. Auf ähnlicher Basis beruht die von Nakanishi angegebene Methode der Vitalfärbung; er findet, daß lebende Bakterien ebenso wie Leukocyten der Färbung schwer zugänglich sind und erst beim Absterben meist sich färben. Doch fand er zuweilen mit Methylenblau gefärbte Vibrionen noch beweglich, eine Beobachtung, die nach privater Mitteilung auch Herr Geh.-Rat Pfeiffer an Choleravibrionen vor Jahren bereits gemacht hat. Die Mehrzahl der Färbungen von Nakanishi betrifft mit Formoldämpfen abgetötete Mikroben, hat also für uns keine Bedeutung — erwähnt sei nur die auch von ihm festgestellte Ektoplasmafärbung. Von prinzipiellem Interesse ist aber eine sehr weit zurückreichende Arbeit von Buchner über „den Färbungswiderstand lebender Pilzzellen“. Von der Tatsache ausgehend, daß lebende Sporen unfärbbar sind und erst dann die Färbung annehmen, wenn sie durch Hitze oder chemische Agentien abgetötet werden, zeigte B. an Bierhefe sowie an Typhusbacillen, daß Abtöten durch Erhitzen den Färbungswiderstand ganz bedeutend herabsetzt. Bei manchen Bakterienarten findet er die Unterschiede zwischen erhitzten und unerhitzten Proben gering — es werden wohl grampositive Arten gewesen sein, die wegen ihrer hohen Empfindlichkeit alsbald von den Farbstoffen abgetötet werden. Besonders interessant sind folgende Ausführungen von B.: „Es gibt eine gewisse Stufe der Färbung, welche mikroskopisch bereits deutlich wahrnehmbar ist, ohne noch die Lebensfähigkeit der Zelle zu vernichten. Bei gewissen Farbstoffen, z. B. Phloxinrot, scheint diese Stufe ausnahmsweise hoch zu liegen. . . Ein gewisser Grad von Farbstoffaufnahme schließt daher das Weiterleben der Zelle nicht aus. Man kann sich das möglicherweise so vorstellen, daß im Bakterienplasma verschiedene Anteile vorhanden sind, und daß gerade die für das Leben wichtigsten Anteile erst später den Farbstoff aufnehmen und eine chemische Bindung mit demselben eingehen. Denn eine volle Sättigung aller Teile des Bakterienplasmas mit Farbstoffen können wir uns nicht anders als mit dem Tode der Zelle zusammenfallend vorstellen.“ Zu

gleicher Zeit hat Jaenicke in einer sehr bemerkenswerten Arbeit aus Anlaß der von Stilling angegebenen Desinfektionswirkung des Pyoktanins (Methylviolett) gefunden, daß diejenigen Bakterienarten, die am stärksten von diesem Farbstoff gehemmt resp. abgetötet werden, von seinen Lösungen auch am schnellsten und intensivsten gefärbt werden (die empfindlichsten waren *Micr. pyogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *B. anthracis*, *B. subtilis*, *Streptococcus lanceolatus* — die wenig empfindlichen *V. cholerae* und *B. typhi*). Bei Abtötungsversuchen fand er, daß solange mikroskopisch noch ungefärbte oder wenig gefärbte Keime zu sehen waren, auch der Kulturversuch positives Resultat gab. Von Färbbarkeitsdifferenzen zwischen lebenden und durch Phagocyten abgetöteten Bakterien berichten auch Metschnikoff (Milzbrand) sowie Plato (Gonokokken). Certes sah beim *Spirobacillus gigas* Färbung eintreten erst bei der Sporenbildung, wobei, wie wir wissen, ein Degenerationsprozeß des zur Sporenbildung nicht aufgebrauchten Oidienplasmas einsetzt.

Auf farbstoffhaltigen Nährböden hat Birch-Hirschfeld verschiedene Bakterien gezüchtet — und fand, daß Choleravibrionen dabei beweglich, Milzbrandbacillen infektionstüchtig bleiben können, obwohl sie sich zum Teil stark färben (ohne Kautelen!). Die besten Resultate hatte er bei Züchtung von *B. typhi* auf Gelatine mit 0,14 Proz. Phloxinrot; die Bakterien sind nach einer gewissen Zeit entweder homogen oder segmentiert gefärbt, zum Teil zu Fäden ausgewachsen, — was B.-H. als Sporen beschreibt und abbildet, sind wohl plasmolysierte Stäbchen. Charakteristisch ist, daß die lebhaft beweglichen Stäbchen immer ungefärbt oder schwach gefärbt sind. Wie unten noch hervorgehoben wird, gehört Phloxinrot zu den relativ wenig toxischen Farbstoffen. Calandra züchtete auf schwach farbstoffhaltigen Nährböden *B. typhi* und *B. coli* meist zu differentialdiagnostischen Zwecken — in Bouillon mit Brillantkresylblau (ca. $\frac{1}{5000}$) findet er beide gefärbt und beweglich. Péju und Rajat beobachteten eine Fixation des Farbstoffs auf damit imprägnierten Nährböden durch verschiedene Bakterienkulturen (Eosin, Methylenblau, Neutralrot, Pikrinsäure, Helianthin) — bei Fuchsin, Malachitgrün soll sie fehlen (widerspricht meinen Erfahrungen mit Fuchsin) — Methylgrün, Magentarot, Gentianaviolett sollen von der Kultur zerstört werden (gemeint ist wohl zum Teil Kondensation des Farbstoffs, zum Teil Reduktion). Signorelli züchtete Choleravibrionen auf Nährböden mit Dahlia ($\frac{1}{20000}$), Safranin (1 Prom.), Erythrosin (1 Prom.) und beobachtete auf Dahliaagar am 3. Tage bewegliche gefärbte Vibrionen — auf Safranin- und Erythrosinagar waren sie ungefärbt und unbeweglich. Die positiven Uebertragungsversuche vom Dahliaagar sind nach meinen früheren Ausführungen nicht beweisend, da die Färbung aller übertragenen Keime nicht festgestellt wurde, ebensowenig auch die positiven Tierversuche. Besonderen Wert legt S. auf die Kondensation der Farbstoffe in den Kulturbedägen und glaubt sie zur Differentialdiagnose des Choleravibriosis verwenden zu können. Dem widersprechen nach ihren neuesten Untersuchungen Krumwiede und Pratt, die eine derartige Spezifität vermißten. Interessant ist ihre Feststellung, daß die Färbung der Kulturen in umgekehrtem Verhältnis steht zur Ueppigkeit des Wachstums. Erwähnt sei auch die Beobachtung von Reitz, der bei Wachstum von *B. typhi* auf Eosinagar (2-prom. bis 1-proz.) eine Kondensation des Farbstoffs im Belag und Auftreten von 3 gefärbten Körnchen in den Bakterien beschreibt. Diese Körnchen glaube ich nach meinen Erfahrungen als

plasmolytisch retrahierte Protoplastenanteile an den Polen deuten zu müssen — ihre Dreizahl, wenn sie tatsächlich immer zutrifft, beruht auf dem öfteren Vorkommen von nicht getrennten Doppelindividuen. Die Auffassung dieser Körnchen als Schutzorgane der Bakterienzelle gegenüber dem Farbstoff ist wohl durch nichts begründet. Daß diese Gebilde zur Differentialdiagnose verwendet werden könnten, indem sie nur dem *B. typhi* zukämen, nicht aber dem *B. coli*, muß ich in Uebereinstimmung mit Zeiss verneinen; daß sie beim *B. typhi* öfter zu finden sind, ist wohl auf seine größere Empfindlichkeit und schnellere Degeneration zurückzuführen. Endlich wären noch die Beobachtungen von Vay zu erwähnen, der auf Agar mit Dahlia oder Pfaublau bei verschiedenen Angehörigen der Typhus-Coli-Gruppe in den zum Teil teratologischen Fadenformen verschiedene gefärbte Körnchen auftreten sah. Nach den Bildern von Vay zu urteilen, sowie nach meinen Nachprüfungen möchte ich die Mehrzahl dieser Bilder auf plasmolytische Differenzierung und nachträgliche (ob noch vitale?) Färbung zurückführen. Wie oben erwähnt, treten diese Formen meist erst nach einigen Tagen auf und werden in größerer Zahl beobachtet, wenn man für Aussaat älteres Material benutzt. Damit soll natürlich die Möglichkeit isolierter vitaler Granulafärbung nicht im allgemeinen verneint werden, weisen doch die Beobachtungen an Schimmelpilzen, Hefe, Protozoen, sowie die vitale Indophenolsynthese nach Dietrich und Liebermeister, sowie nach Schultze darauf hin.

Es wird nicht uninteressant sein, im Zusammenhang mit dieser Uebersicht auf einige Beobachtungen über die Vitalfärbung von Sproß- und Schimmelpilzen hinzuweisen. Matruchot hat bei einer Mucorinee (und bei einem Fadenbakterium) durch Symbiose mit *B. violaceum* Vitalfärbung gewisser Anteile des Protoplasmas erzielt. Ähnliches beobachtete Marzinowsky in letzter Zeit bei Symbiose von Schimmelpilzen mit *B. prodigiosum*, *B. violaceum*, *M. pyogenes* α, außerdem wuchsen gefärbte Rasen der Schimmelpilze auf Agar mit Fuchsin, Methylenblau oder Gentianaviolett. Die Mycelfäden waren hier diffus gefärbt, die Konidien schwächer als das restliche Mycel. Größere Bedeutung beanspruchen die Untersuchungen von Plato und Guth über Vitalfärbung von banalen Schimmelpilzen, *Penicillium brevicaulis* und *Trichophyton*-Pilzen mittels Neutralrots ($\frac{1}{50000}$ — $\frac{1}{100000}$). Es fand eine sehr distinkte vitale Färbung bestimmter Körnchen inmitten von farblosem Protoplasma statt, die die Autoren als Reoxydation des als farbloses Leukoprodukt aufgenommenen Farbstoffs deuten.

Ueber Vitalfärbung von Preßhefe mittels schwacher Neutralrotlösungen hat Küster Versuche angestellt und dabei Färbung von kleinen Körnchen in den Vakuolen bekommen, die er als Stoffwechselprodukte betrachtet — Plasma und Vakuolen waren dabei an lebenden Zellen ungefärbt, färbten sich erst an abgestorbenen Individuen. Also im Resultat intravitale Färbung lebloser Gebilde. Rosenstiehl wies später auf die große Bindungsfähigkeit der Weinhefe für Anilinfarbstoffe und auf die daraus resultierende Schädigung des Gärvermögens hin. Auch Bokorny hat die Hefezelle mit Anilinfarben vital gefärbt; er findet, daß in einem ersten Stadium, wenn die Zelle erst wenig Farbstoff aufgenommen hat, Färbung ohne Gefährdung des Lebens möglich ist.

Toxizität und Konstitution der Farbstoffe.

Und nun wollen wir nach dem langen Umweg zur Frage nach dem Zusammenhang zwischen Konstitution und Bakteriengiftigkeit der Farbstoffe zurückkehren. Von der Voraussetzung ausgehend, daß ein Körper, um toxisch zu wirken, von der Bakterienzelle gebunden werden muß (einer Voraussetzung, die nicht ausnahmslos, wohl aber in unserem Fall zutreffen dürfte), haben wir oben am Prozeß der Desinfektion sowie Entwicklungshemmung zwei Teilfaktoren unterschieden: Die Aufnahme des Antiseptikums und seine Reaktion mit dem Protoplasma. Wirkt also ein Farbstoff toxisch, so kann daraus auf seine Permeabilität geschlossen werden; tut er es nicht, so kann er entweder nicht aufgenommen werden, oder aber er wird aufgenommen, ist aber unschädlich. In diesem Fall muß zunächst die mikroskopische Kontrolle über die Permeabilität entscheiden, und dann erst kann ein Urteil über die Toxizität gefällt werden, d. h. ob der Farbstoff permeabel, aber atoxisch, oder zwar toxisch, aber impermeabel ist. Da uns natürlich vor allem die vitale Permeabilität der Farbstoffe interessiert, so mag es vielleicht auf den ersten Anblick verwunderlich erscheinen, daß hier die Entwicklungshemmung ihr Gradmesser werden soll, also eine toxische Funktion. Man muß jedoch bedenken, daß, wie viele andere und auch unsere Versuche lehren, von der Aufnahme der ersten kleinen Giftmengen, die vollständig reversibel ist und keine dauernde Schädigung der Zelle zurückzulassen braucht, bis zum irreversiblen Abtötungsvorgang aller Zellen eine ganze Stufenleiter von Uebergängen vorhanden ist — daß also bis zu einem gewissen Punkt sicher die Gift-, hier die Farbstoffaufnahme ein vitaler Vorgang ist, den wir nur hier an einem deutlich feststellbaren, wenn auch vorgeschrittenen Punkt zu unseren quantitativen Vergleichen heranziehen. Dieser Standpunkt steht auch nicht in Widerspruch mit meiner Stellungnahme zur Frage der Vitalfärbung der Bakterien, denn dort wird ja einerseits intakte Lebensfähigkeit der Zelle resp. der färbbaren Gebilde, andererseits eine genügend starke Farbstoffaufnahme gefordert. Hier aber wird aus der Tatsache vorhandener oder fehlender Entwicklungshemmung nur gefolgert, ob der betreffende Farbstoff überhaupt permeiert oder nicht.

Wenn wir nun an der Hand der beigegebenen Tab. IV, die die hauptsächlichsten Daten bezüglich der chemischen Zugehörigkeit, Wirksamkeit, der Permeabilität, der kolloidalen Eigenschaften und der sonst beobachteten Toxizität der von mir benutzten Farbstoffe nebeneinander stellt, die Toxizität mit anderen Eigenschaften in Zusammenhang bringen wollen, so sehen wir ohne weiteres, daß die Eigenfarbe hier nicht in Betracht kommt. Toxische Farbstoffe können die verschiedensten Nuancen aufweisen, Farbstoffe derselben Nuance hoch toxisch, wenig toxisch oder unschädlich sein. Dagegen scheint ein Zusammenhang zwischen Färbekraft und Toxizität gegenüber Bakterien (von den Unterschieden zwischen grampositiven und -negativen Arten wird vorläufig abgesehen) nicht von der Hand zu weisen sein — Farbstoffe, die ohne besondere Hilfsmittel Bakterien nicht färben, sind auch in der Regel atoxisch, die am stärksten färbenden finden sich in der Rubrik der stärksten Gifte. Dahlia, Kristallviolett, Aethylviolett, Viktoriagrün, Amethystviolett marschieren an der Spitze der Färbekraft und Toxizität, die im allgemeinen farbschwachen Fluoresceinderivate, das träge und schwache Rhodamin B sind auch schwache Bakteriengifte. Auch innerhalb der einzelnen Farbstoffgruppen

scheinen solche Beziehungen noch vorhanden zu sein, wenngleich hier aus den oben schon erörterten Gründen nur ausgesprochene Differenzen zu verwerten sind. Auch ist die Feststellung schwacher Färbekraft oft unmöglich, wenn der betreffende Farbstoff schlecht löslich ist und demgemäß in schwachen Lösungen zur Verwendung kommt (Gallein, Cörolein, Alizarincyanin, Alizarinblau S usw.). Dieser Zusammenhang zwischen Färbekraft und Toxizität ist übrigens gut verständlich, wenn man bedenkt, daß eine gute Bakterienfärbung doch Aufnahme und Bindung des betreffenden Farbstoffs zur Bedingung hat, daß also somit zwei wichtige Voraussetzungen für die toxische Wirkung gegeben sind.

Wenn wir im Sinne unserer früheren Auseinandersetzung die Permeabilität und die Toxizität der Farbstoffe mit ihrer Lipoidlöslichkeit (wir haben oben gesehen, was darunter zu verstehen ist) vergleichen, so stoßen wir auch bei unserem Material auf eine Reihe von Widersprüchen mit der Overtonschen Hypothese. Malachitgrün, Methylgrün, Methylengrün, Thionin permeieren leicht trotz minimaler oder fehlender Lipoidlöslichkeit, Wollviolett S, Echtrot A, Tuchrot 3 GA, Oxaminmarron tun es nicht trotz vorhandener. Wir finden hier also dieselben Unstimmigkeiten, die schon von Ruhland an Pflanzen gefunden wurden. Wenn man an Stelle der Löslichkeit die von Overton untersuchte Speicherung durch gequollene Lipide setzt, wird die Uebereinstimmung eine bessere, freilich sind die Angaben zu spärlich, als daß man vollkommenen Parallelismus zwischen Lipidspeicherung und Permeabilität bei Bakterien behaupten könnte.

Auch zwischen Dispersitätsgrad der verschiedenen Farbstoffe in ihren Lösungen und ihrer Bakterienpermeabilität ist ein sicherer Zusammenhang nicht nachweisbar, ebenso wenig gilt widerspruchlos der für die Niere aufgestellte Höbersche Satz, daß wenn ein Farbstoff nicht aufgenommen wird, er suspensionskolloidal sein müsse. Doch auch mit der Geldiffusibilität von Ruhland lassen sich unsere Tatsachen nicht erklären, wie ein Vergleich der entsprechenden Kolonnen in der Tabelle lehrt; es sind zu viele Ausnahmen vorhanden, um nur Nachtblau, Viktoriablauf B und 4 R, Baslerblau, Aurantia, Martiusgelb, Brillantcongo, Chrysamin zu erwähnen, die trotz fehlender Geldiffusibilität von Bakterien aufgenommen werden, oder Azorubin, Naphtolgrün B, Biebricher Scharlach, die trotz vorhandener es nicht tun.

Dagegen glaube ich, daß man zur Erklärung der uns beschäftigenden Tatsachen vielleicht einen Faktor heranziehen darf, auf den bereits Höber seinerzeit hingewiesen hat — die Bedeutung der elektrischen Ladung der Farbstoffe, wie sie in ihrem kataphoretischen Verhalten im Potentialgefälle zum Ausdruck kommt. Ein kurzer Blick auf unsere Tabelle lehrt, daß alle 49 basischen Farbstoffe toxisch wirksam sind, von den 68 Säurefarbstoffen nur 34 überhaupt wirksam sind. Dabei ist noch zu bemerken, daß unter den letzteren drei auszuschalten sind, und zwar Chromgrün, das trotz seiner Konstitution als Karbonsäure infolge Ueberwiegens basischer Gruppen eigentlich ein basischer Farbstoff ist und anodische Konvektion zeigt (Höber), sodann Ag- und Hg-Fluorescein, deren Wirksamkeit auf ihrer Metallkomponente beruht und sich von derjenigen der anderen Fluoresceinderivate deutlich unterscheidet (siehe weiter unten). Sodann sehen wir, daß eine Reihe von den übrig bleibenden 31 wirksamen Säurefarbstoffen nur sehr schwach wirksam sind, so daß ihr Wirkungsgrad mit demjenigen der schwächsten basischen Farbstoffe nicht verglichen werden kann. Wenn wir z. B. die Wirk-

samkeitsgrenze (bei grampositiven Arten) auf $\frac{1}{200}$ festlegen, so bleiben noch alle 50 basischen (Chromgrün eingerechnet) Farbstoffe positiv, von den 65 sauren nur 22. Erhöhen wir die Ansprüche auf $\frac{1}{1000}$, so bestehen noch immer 46 basische (von 50) aber nur mehr 20 saure (von 65). Dieses Verhalten stimmt ja auch im großen und ganzen mit dem Färbungsvermögen der basischen und sauren Farbstoffe für Bakterien überein. Wenn die Uebereinstimmung bezüglich der sauren Farbstoffe keine absolute ist, so liegt das zum Teil an der hellen Nuance, zum Teil auch an ihrer zu geringen Löslichkeit. Wir können aber noch weitere Eigentümlichkeiten eruieren, wenn wir die Konstitution der wirksamen und unwirksamen Säurefarbstoffe zu Rate ziehen. Es zeigt sich dann ein fundamentaler Unterschied zwischen Sulfosäurefarbstoffen und anderen sauren Farbstoffen: von 41 Sulfosäurefarbstoffen sind nur 9 wirksam und zwar schwach wirksam, alle 25 sonstigen Säurefarbstoffe sind ausnahmslos toxisch. Der Unterschied wird noch prägnanter, wenn man die quantitativen Verhältnisse in beiden Gruppen berücksichtigt: Tropäolin OO scheint nur durch eine Verunreinigung wirksam zu sein (gleiche Wirksamkeit bei grampositiven und gramnegativen Bakterien!). Azosäuregelb enthält neben dem Sulfofarbstoff noch Nitrodiphenylamine — es bleiben also von den 9 Sulfofarbstoffen nur 7 übrig mit Grenzwerten von $\frac{1}{33}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{150}$ und $\frac{1}{500}$. Demgegenüber finden wir unter den anderen Säurefarbstoffen Werte von $\frac{1}{40000}$ (Martiusgelb), $\frac{1}{60000}$ (α Nitroso β Naphtol, Rosolsäure), $\frac{1}{10000}$ (Alizarinblau S) usw. Auch in einzelnen Farbstoffgruppen finden sich interessante Belege für diese Sonderstellung der Sulfosäurefarbstoffe: die Nitrofarbstoffe sind alle ausgesprochen giftig — Martiusgelb zeigt einen Grenzwert von $\frac{1}{40000}$ — das durch Sulfonieren aus ihm entstandene Naphtolgelb S einen solchen von $\frac{1}{150}$ ist also über 250mal weniger giftig. Fuchsin ist stark wirksam ($\frac{1}{120000}$) — das Säurefuchsin kaum giftig ($\frac{1}{33}$), also 3600mal weniger toxisch — ebenso vergleiche man die einander nahestehenden Malachitgrün und Lichtgrün FS, oder Kristallviolett und Säureviolett 7 B. Da nun in solchen Fällen der Farbstoff in seiner Struktur unverändert oder fast unverändert ist und nur eine Substitution stattgefunden hat, liegt es nahe, dieser die Entgiftung der Verbindung zuzuschreiben. Diese Feststellung steht in bestem Einklang mit der durch die neuere experimentelle Pharmakologie ziemlich allgemein anerkannten entgiftenden Rolle der Sulfogruppe (Morphin — Morphinätherschwefelsäure, Phenyl dimethylpyrazol — Phenyl dimethylpyrazolsulfosäure und andere s. bei Fränkel). Auch auf den uns näher stehenden Gebieten lassen sich auch analoge Entgiftungen anführen — Phenolätherschwefelsäure ist antiseptisch fast unwirksam (bei 1 Proz. keine Entwicklungshemmung in meinen Versuchen — gegenüber Phenol, das bei 1—2 Prom. noch wirksam ist), die sonst stark wirksamen Halogennaphtole werden durch Sulfonieren wirkungslos (Bechhold). Farbstoffe, welche zur vitalen Färbung von Nervengewebe befähigt sind, verlieren nach Ehrlich ihre Neurotropie durch Sulfonieren.

Rekapitulieren wir diese Tatsachen, so kommen wir zu folgenden Schlüssen: basische Farbstoffe sind im allgemeinen giftig, Sulfofarbstoffe im allgemeinen ungiftig oder schwach giftig, wenn die eingeführte Sulfo-Gruppe die originäre Toxizität des Kernes nicht ganz hat auslöschen können, andere Säurefarbstoffe sind giftig, aber meist weniger, als die basischen. Wie ist nun diese Gesetzmäßigkeit zu erklären? In das eigentliche Rätsel der Giftwirkung einzudringen, ist uns bis zu einer genaueren Erkenntnis der Protoplasmastruktur und -Zusammensetzung

kaum möglich. Bei den Anilinfarbstoffen handelt es sich um Derivate von Stoffen, die an sich schon toxisch sind, die Einführung von verschiedenen Gruppen in ihren Komplex kann einerseits die Toxizität als solche erhöhen (auxotoxe Gruppen, wie es auxochrome gibt), oder aber die Aufnehmbarkeit der Stoffe beeinflussen, oder aber beides zugleich. In Uebereinstimmung mit der jetzt fast allgemein akzeptierten Anschauung müssen wir die Färbung der Bakterien als Adsorptionsprozeß betrachten, bei dem, wie bei solchen Prozessen im allgemeinen, elektrische Potentialunterschiede zwischen Adsorbens und adsorbierter Substanz eine große Rolle spielen. Besonders bei der Adsorption von Farbstoffen, Eiweißkörpern und Enzymen ist festgestellt worden, daß eine entgegengesetzte elektrische Ladung des Adsorbens und der adsorbierten Substanz Vorbedingung ist für die Adsorption. Nun zeigen Bakterien im Stromgefälle anodische Konvektion, sind also negativ geladen, daher wohl die Bevorzugung der positiv geladenen basischen Farbstoffe, die unter Ausgleich der elektrischen Ladungen adsorbiert werden. Schwieriger erfolgt wohl die Adsorption von sauren Farbstoffen, sie ist möglich, da das Eiweiß sowohl positiv als auch negativ geladen werden kann, doch gehören dazu Stoffe von starker negativer Ladung. Daß Sulfofarbstoffe im allgemeinen von Bakterien nicht aufgenommen werden oder nur schwer, ist wohl darauf zurückzuführen, daß nach Freundlich die Einführung der Sulfogruppe die Adsorbierbarkeit herabsetzt.

Auch manche Details innerhalb der einzelnen Farbstoffgruppen lassen sich auf die Konstitution der Farbstoffe zurückführen. So z. B. die schwache Wirksamkeit des sehr schwach basischen Rhodamins (seiner Konstitution nach Karbonsäure) oder Gallocyanins (ebenfalls Karbonsäure), die relativ schwächere Wirksamkeit des Chromgrüns im Vergleich zum Malachitgrün, dessen Karbonsäure es ist¹⁾. Methylgrün, ein Derivat des Methylvioletts, dessen eine Amidogruppe durch das Jodmethyl abgesättigt, dessen Basizität also herabgesetzt, ist, wirkt dementsprechend auch bedeutend schwächer. Auch Krieglerr findet in gewissen Fällen ein paralleles Verhalten von Basizität und Toxizität der basischen Farbstoffe. Einführung von Alkylen, Arylen und Halogenen erhöht in vielen Fällen die Wirksamkeit von Farbstoffen, wie auch sonst von Antiseptics festgestellt wurde (Bechhold u. Ehrlich, Laubenheimer u. a.). Chrysolin (Benzylfluorescein) und Eosin (Tetrabromfluorescein) sind bedeutend wirksamer als Fluorescein, die Rosanilinviolette als Fuchsin, Rose bengale, Cyanosin, als Fluorescein oder Eosin. Die Anhäufung von Nitrogruppen steigert bei sauren Farbstoffen ihre Wirksamkeit, wie Martiusgelb, Aurantia zeigen; Methyleosin (Dibromdinitrofluorescein) ist wirksamer als Fluorescein oder Eosin (Tetrabromfluorescein). Es sei hier jedoch auch bemerkt, daß im Detail so manche Differenz der Wirksamkeit verschiedener Farbstoffe sich noch der Deutung entzieht. Es genüge hier gezeigt zu haben, daß ein Zusammenhang zwischen Konstitution und Bakterientoxizität der Farbstoffe besteht, und zwar zum Teil ein direkter, zum Teil auch ein indirekter, indem durch die Konstitution die Permeabilität und damit auch die Wirkungsmöglichkeit bedingt wird.

Ueber die Toxizität der Farbstoffe für verschiedene Pflanzen und Tiere sowie für den Menschen existieren in der Literatur ziemlich viele Angaben, einige wichtigere davon habe ich in der Tab. IV zusammen-

1) Nach Babel soll die Karboxylgruppe die Giftigkeit basischer Farbstoffe vermindern.

gestellt. Beim Vergleich dieser Angaben mit unseren Resultaten an Bakterien wird man wohl in vielen Fällen (besonders bei starker Toxizität) Uebereinstimmung finden, in manchen jedoch nicht. Man wird auch bemerken, daß bei demselben Farbstoff die Angaben einzelner Autoren oft untereinander nicht ganz übereinstimmen, wenn man bedenkt, daß diese Resultate an verschiedenen Objekten, bei verschiedener Applikationsweise, mit verschieden konzentrierten Lösungen gewonnen sind. Im allgemeinen läßt sich feststellen, daß basische Farbstoffe fast durchgehends mehr oder weniger toxisch befunden wurden, von sauren (soweit Angaben darüber vorliegen) meist nur diejenigen, die auch antiseptisch wirksam sind. Besonderes Interesse beanspruchen die Versuche von Gräflin sowie Vogt, die am Kaninchenauge die Giftigkeit einer Reihe von Farbstoffen in Substanz untersuchten. 28 basische Farbstoffe erwiesen sich durchgehends als giftig, 36 Sulfocarbostoffe als ungiftig. Sie führen dies darauf zurück, daß basische Farbstoffe leicht in die Zellen hineingelangen und dort durch Bindung an die Kerne toxisch wirken, während die sauren durch Eiweißfällung sich den Weg ins Innere der Zelle versperren sollen. Wenngleich diese Erklärung für die sauren Farbstoffe zweifellos irrig ist (die Säurefarbstoffe sind ja keine freien Säuren!), so ist doch der Hinweis auf die Differenz der Permeabilität richtig und bedeutungsvoll.

Die Wichtigkeit der Individualität der Objekte, an denen die Prüfungen der Toxizität und Permeabilität angestellt werden, wird auch ersichtlich, wenn man die Angaben verschiedener Forscher über die Permeabilität verschiedener Farbstoffe sowohl untereinander, als auch mit unseren Resultaten vergleicht. Es hat eben sein Mißliches, wenn man die an einem Objekt gewonnenen Erfahrungen ohne weiteres als allgemeine Regel für alle lebenden Zellen aufstellt, ohne der Verschiedenheit ihres Aufbaus, ihrer chemischen Bestandteile, ihrer Regulationsvorgänge, kurzum ihrer biologischen Eigenart Rechnung zu tragen. Ich kann diesen Hinweis nicht besser bekräftigen, als indem ich folgenden prägnanten Satz aus Fränkels Arzneimittelsynthese anführe: „Eine Theorie, die alle Selektionerscheinungen und alle Wirkungen nur von einem Gesichtspunkt aus, sei es nun von einem physikalischen oder chemischen, zu erklären versucht, muß immer an der Mannigfaltigkeit der Wechselbeziehungen der verschieden wirkenden Substanzen und der verschiedenen Gewebe scheitern.“ Daß selbst näher verwandte Lebewesen bezüglich Giftempfindlichkeit und Permeabilität ganz außerordentliche Differenzen aufweisen können, werden wir an einem großen Tatsachenmaterial im nächsten Abschnitt erfahren können.

Ueber halbspezifische Hemmungswirkungen von Anilinfarbstoffen auf Bakterien.

Während wir bisher der Einfachheit halber nur im allgemeinen von der Toxizität der Farbstoffe sprachen, wollen wir nunmehr der Frage näher treten, ob diese Wirkung sich gleichmäßig auf verschiedene Bakterienarten erstreckt. Wie der innige Zusammenhang zwischen Toxizität und Färbvermögen der Farbstoffe gegenüber Bakterien schon im vorhinein erwarten läßt, ist das nicht der Fall. Eine summarische Durchmusterung der beigegebenen Versuchstabellen zeigt sogleich, daß grampositive und gramnegative Arten im allgemeinen gegenüber allen überhaupt toxischen Farbstoffen in sehr verschiedenem Grade empfindlich sind. Nur drei Ausnahmen fanden sich von der Regel: Tropäolin 00, Rosazurin B

29*

(vielleicht eine Beimengung?) und Alizarin (vielleicht Ueberschuß von Alkali, das zur Lösung verwendet wurde?), wo ein deutlicher Unterschied nicht festzustellen war. In der zusammenfassenden Tabelle wurde als Maßstab der Wirksamkeit auf grampositive resp. gramnegative Bakterien (so weit sie zur Untersuchung kamen) diejenige Konzentration gewählt, bei der die widerstandsfähigste Art der betreffenden Gruppe eben wächst, während die anderen noch gehemmt sind. Ein derartiger Grenzwert ist willkürlich gewählt, gibt aber einen Anhaltspunkt für quantitative Vergleiche. In Anbetracht der ohnehin großen Ausdehnung der Versuche (die, wie die Untersuchungen von Ruhland, Küster und Höber lehren, nur dann eine befriedigende Uebersicht geben, wenn sie an einer großen Reihe von Farbstoffen ausgeführt werden) konnte dieser Grenzwert, wie die Tabelle zeigt, nicht in allen Fällen für beide Gruppen ermittelt werden, bei vielen Farbstoffen begnügte ich mich mit der Festlegung der unteren Grenze für die empfindlicheren grampositiven Arten. In denjenigen aber, wo beide Werte vorliegen, zeigt der Vergleich, daß die Differenzen für verschiedene Farbstoffe verschieden groß sind. So sehen wir beim Kristallviolett die Grenzwerte $\frac{1}{100} - \frac{1}{1000000}$ (der erste für gramnegative, der zweite für grampositive Arten), beim Fuchsin $\frac{1}{100} - \frac{1}{120000}$, also ganz außerordentlich weit auseinanderliegend — dagegen beim Bismarckbraun $\frac{1}{250} - \frac{1}{500}$, beim Azosäuregelb $\frac{1}{50} - \frac{1}{100}$, beim Echtgrün $\frac{1}{2000} - \frac{1}{5000}$ — also ziemlich nahe aneinander. Im ganzen überwiegen die großen Differenzen, in vielen Fällen wurde die Grenze für gramnegative Arten nicht ermittelt, weil sie oberhalb der gebräuchlichen höchsten Konzentration (1-proz.) lag. Gegenüber dieser Unempfindlichkeit der gramnegativen Arten erreicht diejenige der grampositiven ganz exorbitante Grenzen: Nährböden, die mit Kristallviolett, Dahlia oder Viktoriagrün in einer Konzentration von $\frac{1}{1000000}$ versetzt sind und an denen das geübteste Auge kaum mehr die Anwesenheit von Farbstoffspuren erkennt, hemmen noch ganz stark das Wachstum mancher grampositiver Arten. Auch hier erweist sich die biologische Analyse wieder einmal viel feiner, als es die chemische sein kann. Sehr prägnant und demonstrativ werden die Resultate, wenn man den farbstoffhaltigen Agar in Petrischalen oberflächlich beimpft, und zwar in der Weise, daß man auf der einen Hälfte ein grampositives, auf der anderen ein gramnegatives Bakterium ausstreicht — das üppige Wachstum des letzteren kontrastiert dann mit der sterilen Hälfte des ersteren.

Außer diesen großen Differenzen zwischen beiden Gruppen zeigen unsere Versuche noch ziemlich regelmäßig wiederkehrende Empfindlichkeitsabstufungen innerhalb der Gruppen. Innerhalb der grampositiven Gruppe (es ist immer vorläufig nur von den je 6 repräsentativen Arten die Rede) sind der *Microc. pyogenes* α und der *Microc. candicans* die widerstandsfähigsten (gegenüber der Farbstoffwirkung natürlich — das gilt nicht allgemein!) — unter ihnen der erste meist (nicht immer) widerstandsfähiger als der zweite, dann kommt *Corynebact. pseudodiphthericum*, dann *Sarcina tetragena*, dann *B. anthracis*, zuletzt *Corynebact. diphtheriae*. Ist die oben erwähnte Grenze der Wirksamkeit eines Farbstoffs überschritten, so erscheint in der stärksten Konzentration zuerst das Mikrokokkenpaar oder der *M. pyogenes* allein in vereinzelt Kolonien, in einer schwächeren Verdünnung wachsen sie bereits mäßig oder üppig, dazu noch die Pseudodiphtherie in einzelnen Kolonien, in einer weiteren Verdünnung kommt die *Sarc. tetragena* dazu und *B. anthracis* — bei noch schwächerem Farbstoffzusatz endlich erscheint auch die anspruchsvolle Diphtherie. Bei gramnegativen

Arten ist die Reihe der steigenden Farbstoffempfindlichkeit: *B. pyocyaneum* < *B. vulgare*, *B. coli* < *B. typhi* < *B. pneumoniae* < *V. cholerae*. Wächst also von den 6 gewählten gramnegativen auf einer gegebenen Farbstoffverdünnung nur einer, so ist es fast sicher das *B. pyocyaneum* — fehlt nur einer — so ist es der Choleravibrio. Dieser letztere nimmt überhaupt innerhalb der Gruppe eine Sonderstellung ein, indem seine Empfindlichkeit diejenige der anderen meist weit hinter sich läßt und ihn oft in die Nähe der grampositiven bringt. Ja zuweilen bekommt man sogar eine Transgredienz der Reihen, indem bei manchen Farbstoffen bei einer gewissen Konzentration bereits die ersten grampositiven — *M. pyogenes* und *candicans* — zu wachsen anfangen, die Cholera aber noch immer gehemmt ist — also die oben aufgestellte Regel durchbricht. Vielleicht hängt dies mit ihren besonderen Ansprüchen an die Alkaleszenz des Nährbodens zusammen — um die Versuche einheitlich zu gestalten, wurde immer die ganze Serie von demselben Agar gemacht, so daß die Cholera sich zur gewöhnlichen Alkaleszenz unserer Nährböden bequemen mußte. Es ist nämlich auffallend, daß unter den Farbstoffen, bei denen diese Transgredienz der Reihen zu beobachten war, sich relativ viele Säurefarbstoffe befinden: Naphtholgelb S, Martiusgelb, Aurantia, Metanilgelb, Azosäuregelb, Diamant-schwarz, Chromgrün, Echtgrün, Corallin, Uranin, Phloxin, Cörulein, α -Nitroso- β -Naphthol, Gallein, Anthracenblau. Bei drei Säurefarbstoffen war auch beim *B. vulgare* solch eine abnorme Empfindlichkeit hervorgetreten: beim Martiusgelb, α -Nitroso- β -Naphthol und Azosäuregelb — auf Grund von Salzversuchen, die in der folgenden Mitteilung beschrieben werden sollen, glaube ich, daß auch diese Art relativ säureempfindlich ist, wenn auch weniger als der Choleravibrio.

Auch sonst wird man in den Tabellen hier und da kleine Besonderheiten der einzelnen Bakterienarten finden, die, wenn sie auf einem größeren Material von Stämmen konstant gefunden würden, zur Differentialdiagnose oder elektiven Züchtung Verwendung finden könnten. Hierher gehört z. B. die größere Widerstandsfähigkeit des *B. typhi* im Vergleich mit dem *B. coli* bei Einwirkung von Aethylgrün, die im analogen von Loeffler entdeckten und praktisch verwerteten Verhalten gegenüber Malachitgrün ihr Vorbild findet. Auch sei hier auf gewisse Modifikationen der toxischen Farbstoffwirkung hingewiesen, die durch andere toxische Beimengungen entstehen können; wahrscheinlich z. B. ist die relativ große Wirksamkeit des Malachitgrüns (Chlorzinkdoppelsalz) auf gramnegative Bakterien auf den ZnCl_2 -Gehalt zurückzuführen; wie im zweiten Teil gezeigt werden soll, wirkt dieses Salz stark hemmend und zwar mit ähnlicher Elektivität, wie die Farbstoffe, so daß die beiden einsinnigen Wirkungen sich wahrscheinlich addieren. Dasselbe trifft voraussichtlich für Aethylgrün und Bindscheiders Grün zu.

Eine ganz besondere Bedeutung glaube ich den Erfahrungen zuschreiben zu müssen, die ich in bezug auf die Elektivität der Hemmungswirkung mit den Silber- und Quecksilbersalzen des Fluoresceins gemacht habe. Beide Präparate, hergestellt von den Elberfelder Farbwerken, verdanke ich dem freundlichen Entgegenkommen der Herren Prof. Bruck und Dr. A. Glück, denen auch an dieser Stelle mein herzlicher Dank ausgesprochen sei. Das erste mit ca. 40 Proz. Ag-Gehalt unterscheidet sich vom Uranin (Fluoresceinnatrium) nur dadurch, daß hier Ag als Kation fungiert. Die Einführung des Silbers steigert ganz gewaltig die Wirksamkeit der Verbindung von $1/100$ auf über $1/10000$, doch hat sich der Wirkungstypus sehr geändert, indem der Uebergang von den wirksamen

Dosen zu den unwirksamen sehr rasch erfolgt, und eine elektive Beeinflussung ist in der Verdünnung $1/17000$ kaum mehr angedeutet.

Ähnlich verhält sich das Hg-Fluoreszein mit ca. 48 Proz. Hg-Gehalt. Es löst sich in Wasser nur unter Alkalizusatz, zeigt ebenfalls eine Wirksamkeit von über $1/10000$, und auch hier ist von Elektivität sehr wenig zu merken. Es zeigen diese Beispiele, wie die Einführung von differenten Radikalen wichtige Aenderungen im toxikologischen (wohl auch pharmakologischen) Verhalten eines Körpers nach sich ziehen kann.

Von sonstigen Details sei noch bemerkt, daß in vielen Fällen sowohl bei grampositiven als bei gramnegativen Arten in Röhrchen, die noch partiell hemmende Konzentrationen des Farbstoffs enthielten, die aufgegangenen einzelnen Kolonien sehr beträchtliche Differenzen ihrer Größe aufwiesen, die nicht gut ausschließlich auf eine ungleichzeitig einsetzende Vermehrung zurückzuführen waren. Eine derartige Erscheinung ist vor kurzem von Penfold beim *B. coli* auf Agar mit Natrium-monochloracetat beschrieben worden (auch ich konnte sie auf solchem Agar reproduzieren), wobei manche dieser Kolonien eine augenscheinlich durch Mutation entstandene erblich fixierte Herabsetzung des Gasbildungsvermögens aufwiesen. Ich hatte noch keine Gelegenheit, diese Erscheinung, der ich übrigens öfters auch auf Agar mit verschiedenen hemmenden Salzen begegnet bin, näher auf ihre Konstanz und biologische Bedeutung zu prüfen. Ich will jedoch erwähnen, daß ich unter gewissen Bedingungen beim *B. prodigiosum* sowie beim *B. typhi* bei Aussaat von farbstoffhaltigen Nährböden oder alten Kulturen solche Hemmungsformen habe erhalten können, die sich als mehr oder weniger konstant erwiesen und entweder als Mutanten oder als Uebergänge zwischen solchen und modifizierten Formen anzusprechen sind (ähnlich dem *B. typhi mutabile* von Jacobson). Beim *B. vulgare* wird sehr oft auf den farbstoffhaltigen Nährböden Ausbleiben des charakteristischen Ausschwärmens beobachtet, doch ist diese Aenderung, soweit untersucht, nur eine vorübergehende Modifikation.

Eine andere Eigentümlichkeit, die ich ebenfalls in solchen partiell hemmenden Konzentrationen bei Angehörigen beider Gruppen gelegentlich beobachtet habe, beruht darin, daß die einzelnen, spärlichen oder zahlreicheren Kolonien, die überhaupt gewachsen waren, ausschließlich oder fast ausschließlich an den Rändern des Agars zur Entwicklung gelangten. Worauf dieses Phänomen beruht, kann ich mir momentan nicht erklären.

Die Ergebnisse, mit denen wir uns bis jetzt befaßt haben, waren an den 2 Serien von je 6 Repräsentativarten gewonnen. Es war nun von Interesse, sich wenigstens vorläufig darüber zu orientieren, ob die beschriebene Elektivität der Hemmungswirkungen auch bei anderen grampositiven und gramnegativen Arten zutrifft. Tatsächlich ergaben Versuche, die mit einigen der bekanntesten Farbstoffe (Fuchsin, Kristallviolett, Malachitgrün, Chrysoidin, Safranin, Methylenblau, Säurefuchsin, Reinblau, Naphthol-Orange β , Phloxinrot, Cyanosin) an einer Reihe von anderen Bakterien ausgeführt wurden, eine Bestätigung dieser Voraussetzung. Von grampositiven Arten zeigte sich unter Wahrung der allgemeinen Elektivität *Sarcina lutea* dem *Micr. pyogenes* an Widerstandsfähigkeit gleich, oft sogar überlegen, ein chromogenes Corynebakterium (vielleicht identisch mit dem seinerzeit von R. Müller Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 195 beschriebenen) verhielt sich ungefähr wie *Coryneb. pseudodiphthericum*. Sehr empfindlich zeigten sich aërobe Sporenbildner (sporogener Stamm von *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*), besonders

wenn sie in Form von Sporenmaterial aufgebracht werden. Da nun kaum die Sporen selbst als so wenig widerstandsfähig betrachtet werden können, muß man entweder an eine große Empfindlichkeit des Keimungsprozesses selbst oder der dabei keimenden jüngsten Stäbchen denken. Von gramnegativen Arten zeigte sich *B. prodigiosum* noch wesentlich unempfindlicher als *B. pyocyaneum*, es wuchs noch bei 1 Proz. Kristallviolett, während manche grampositive Arten noch bei $\frac{1}{1000000}$ ganz gehemmt werden, ist also mehr als 10000mal widerstandsfähiger. *B. fluorescens* zeigte sich entsprechend seiner allernächsten Verwandtschaft (wenn nicht Identität) mit *B. pyocyaneum* diesem an Widerstandsfähigkeit gleich. *B. paratyphi* B, *B. enteritidis* sowie *B. aërogenes* zeigen das Verhalten von *B. coli*, *B. rhinoscleromatis* dasjenige von *B. pneumoniae*. Dem *B. typhi* nähert sich das *B. dysenteriae* T. Flexner, dem *Cholera vibrio* dasjenige T. Kruse-Shiga. Ebenso empfindlich erwiesen sich die auch sonst etwas heiklen Arten: *B. violaceum*, *B. coeruleum*, *B. avicidum* (unsere Hühnercholera wächst zart und langsam).

Gerade die Erfahrungen mit den letztgenannten Bakterien hatten mich bewogen, bei der Eruiierung der allgemeinen Gesetzmäßigkeiten vorläufig von solchen Arten abzusehen, die sich durch besondere Empfindlichkeit, Zartheit des Wachstums, spezielle Ansprüche bezüglich der Ernährung und Luftzutritt auszeichnen. Nachträglich schien es aber von Interesse, wenigstens manche dieser Arten auf ihr Wachstum zu prüfen, besonders die Gruppe der gramnegativen Kokken, die bei der Cyanochinmethode sich wie die grampositiven Kokken verhalten, d. h. die Färbung annehmen. In Uebereinstimmung mit dieser Farbstoffpermeabilität, die auch für schwache Lösungen basischer Farbstoffe festgestellt werden konnte, fand ich, daß *Micr. intracellularis*, *Micr. catarrhalis* sowie *Micr. gonorrhoeae* nach ihrer Farbstoffempfindlichkeit unter die grampositiven Arten einzureihen sind. Andere gramnegative Kokken, wie sie in letzten Jahren von verschiedenen Seiten beschrieben wurden, hatte ich noch keine Gelegenheit nach dieser Richtung zu prüfen, glaube jedoch annehmen zu dürfen, daß auch sie sich ähnlich verhalten werden. Die Gonokokkenversuche, die ich in Gemeinschaft mit Herrn Dr. A. Glück (von der Neisserschen Hautklinik in Breslau) an 2 Stämmen ausgeführt habe, erforderten gewisse Vorversuche, die eines allgemeinen Interesses wohl nicht entbehren und die in Tab. V wiedergegeben sind. Da die Gonokokken auf Ascites-Agar gezüchtet werden müssen, war zunächst an bekannten Arten zu untersuchen, inwieweit der Serumzusatz die Hemmungswirkung der Farbstoffe beeinflusst. Mit Kristallviolett sowie mit Methyleosin wurden nun je zwei Versuchsreihen angestellt: in der einen kam gewöhnlicher Agar mit $\frac{1}{3}$ Asciteszusatz und verschiedenen Farbstoffzusätzen, in der Kontrollreihe derselbe Agar mit $\frac{1}{3}$ isotonischer NaCl-Lösung und Farbstoff zur Verwendung. Es ergab sich beim Kristallviolett der beachtenswerte und sogar unerwartete Erfolg, daß beide Reihen gleiche Hemmungswirkungen aufwiesen, während beim Methyleosin eine ganz ausgesprochene Verschiebung der Resultate zugunsten des Bakterienwachstums erfolgte — selbst bei dem hochempfindlichen *Diphtherie bacillus*. Das Resultat des Kristallviolettversuchs erinnert an die Verhältnisse, die für die Hemmungswirkung des Salvarsans auf Milzbrandbacillen von Roos sowie von Neufeld und Schiemann jüngst eruiert wurden. Es fordert wohl auch dazu auf, diese Versuche noch auf andere Farbstoffe auszudehnen und gegebenenfalls die ehemals von Behring als aussichtslos bezeichneten chemothera-

peutischen Versuche wieder aufzunehmen. Wenn Zeiss sowie Titze bei Versuchen mit Eosin keine Resultate zu verzeichnen hatten, so findet das vielleicht in dem oben erwähnten Ausgang des Versuchs mit Methyl-eosin seine Erklärung. Wie so viele Antiseptika wird das Eosin anscheinend zum großen Teil von den Körpersäften gebunden oder unwirksam gemacht. Eine Fällung war freilich in den betreffenden Ascites-nährböden nicht festzustellen, was aber eine Bindung nicht ausschließt. Bezüglich der eigentlichen Gonokokkenversuche sei erwähnt, daß bei 2 Stämmen für Kristallviolett ungefähr übereinstimmend die Hemmungsgrenze bei $\frac{1}{1000000}$, für Martiusgelb $\frac{1}{60000}$ sich ergab.

Abtötungsversuche.

Angesichts der mitgeteilten Resultate der Hemmungsversuche mußte es natürlich verlohnend erscheinen, auch über die eigentliche Desinfektionswirkung der Anilinfarbstoffe Versuche anzustellen, vor allem, um zu erfahren, ob auch dabei die Elektivität zutage treten würde. Freilich hatten diese Versuche mit großen Schwierigkeiten zu kämpfen, die sich bis jetzt nicht beheben lassen. Da es dabei darauf ankam, wirkliche Abtötung festzustellen und Täuschungen durch die in manchen Fällen ganz enormen Hemmungswirkungen auszuschalten, mußte man versuchen, nach erfolgter Einwirkung des Farbstoffs den Ueberschuß zu entfernen oder unschädlich zu machen. Die hierzu empfohlenen Methoden des Austrocknens an Seidenfäden oder anderen Geweben, an Granaten oder Glasscherben oder an Deckgläsern, die mit gewissem Vorbehalt für Sporen oder Staphylokokken zulässig sein mögen, kamen für unsere Testserien, die auch Bakterien großer Empfindlichkeit enthalten, nicht in Betracht. Es wäre dadurch eine Summierung zweier heterogener Schädlichkeiten gegeben, deren jede für unsere Bakterien eine verschiedene Wirksamkeitsskala aufweist. So habe ich mich darauf beschränken müssen, die Entwicklungshemmung durch Farbstoffüberschuß dadurch auszuschalten, daß eine kleine Oese der mit Farbstoff versetzten Bakteriensuspension (immer dieselbe) in 2 ccm, in späteren Versuchen in 5 ccm Bouillon eingetragen wurde. Die daraus resultierende Verdünnung des überschüssigen Farbstoffs auf das 200- bzw. 500-fache mag vielleicht nicht absolut vor Entwicklungshemmung schützen, wohl aber wenn es sich um die minimale letale Dosis handelt — um so mehr als daneben in manchen Fällen wenigstens noch Bindung des Ueberschusses durch die Bouillon denkbar ist. Außerdem wurde nach 3-tägigem Aufenthalt dieser Bouillonröhrchen im Brutschrank diejenigen von ihnen, die steril geblieben waren, von neuem aus dem Kontrollröhrchen beimpft und für weitere 3 Tage in den Brutschrank gestellt, um zu erfahren, ob der verdünnte Ueberschuß des Farbstoffs noch entwicklungshemmend wirkt. Dieser Ergänzungsversuch ist natürlich nur im negativen Fall entscheidend, d. h. wenn das Röhrchen auch nach der Kontrollimpfung steril bleibt — er lehrt, daß in dem betreffenden Röhrchen Entwicklungshemmung vorlag. Ergibt das Röhrchen Wachstum, so ist es nicht ganz sicher, ob nicht beim eigentlichen Versuch Entwicklungshemmung mitgespielt hat, denn Geppert hat seinerzeit nachgewiesen, daß von einem Antiseptikum geschädigte, aber nicht abgetötete Bakterien gegenüber minimalen Spuren desselben viel empfindlicher sind, als unbeeinflusste Keime. Wegen der erwähnten Schwierigkeiten wurden bis jetzt nur wenige solche Versuche gemacht, aus denen jedenfalls eine Elektivität der Wirkung im Sinne der bei der Entwicklungshemmung beobachteten zu entnehmen ist. Zwei davon — mit Kristallviolett und

Malachitgrün — seien beispielsweise hier angeführt (s. Tab. I, II). Mit zwei sauren Farbstoffen angestellte Versuche ergaben keine Abtötung, der mit Martiusgelb wahrscheinlich deshalb, weil infolge der schlechten Löslichkeit die höchste angewandte Konzentration $\frac{1}{2500}$ betrug, beim Methyleosin war diese Konzentration (1,6 Proz.) anscheinend noch zu

Tabelle I.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolum 0,2 ccm einer Aufschwemmung von einer halben Oese 15-stündiger Agarkultur (*Coryneb. diphth.* von Loeffler-Serum, *V. cholerae* von Choleraagar) in 5 ccm dest. H_2O , die entsprechende Menge der Farbstofflösung sowie dest. H_2O . Die Röhrchen bleiben 70 Minuten bei Zimmertemperatur, sodann wird jedes durchgeschüttelt und daraus eine kleine Oese (ungefähr 0,01 ccm fassend) in ein Röhrchen mit ca. 2,5 ccm Bouillon (*V. cholerae* in Cholera-bouillon) gebracht. Das Resultat wird nach 3-tägigem Aufenthalt bei 37° abgelesen, sodann wird in jene Röhrchen, die steril geblieben waren, eine kleine Oese aus dem Kontrollröhrchen geimpft und diese Röhrchen noch weitere 3 Tage bei 37° belassen. Die Resultate dieser Kontrollprüfungen sind neben den Hauptresultaten eingeklammert zu finden. Die Röhrchen mit *Sarc. lutea* wurden bei Zimmertemperatur gehalten.

Bakterienart	Kristallviolett Gr. Konzentration:						0 Kontrolle
	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{8000}$	
<i>Sarc. lutea</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	+
<i>Sarc. tetragena</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (+)	+
<i>Micr. pyogenes</i> α	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (+)	— (+)	+
<i>Micr. candicans</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (+)	+
<i>Corynebact. diphtheriae</i>	— (—)	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	+
<i>Corynebact. pseudo-diphth.</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (+)	+
<i>B. typhi</i>	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	+	+	+
<i>B. coli</i>	— (+)	— (+)	+	+	+	+	+
<i>B. rhinoscleromatis</i>	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	+	+	+
<i>B. pyocyaneum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. vulgare</i>	— (+)	— (+)	— (+)	+	+	+	+
<i>V. cholerae</i>	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	— (+)	+

+ bedeutet Wachstum, — steril.

Tabelle II.

Versuchsanordnung wie in Tabelle I. Die Bouillonröhrchen mit *B. prodigiosum* werden bei Zimmertemperatur gehalten.

Bakterienart	Malachitgrün krist. rein Höchst Konzentration:					Kontrolle 0
	$\frac{1}{125}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	
<i>B. anthracis</i> (asporogen)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	+
<i>Sarc. tetragena</i> (trockene Form)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	+
<i>Sarc. tetragena</i> (schleimige Form)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	+
<i>Micr. pyogenes</i> α	— (—)	— (—)	— (+)	— (+)	— (+)	+
<i>Micr. candicans</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	+
<i>Corynebact. pseudo-diphth.</i>	— (—)	— (—)	— (+)	— (+)	— (+)	+
<i>B. typhi</i>	+	+	+	+	+	+
<i>B. coli</i>	— (+)	+	+	+	+	+
<i>B. pyocyaneum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>B. vulgare</i>	+	+	+	+	+	+
<i>V. cholerae</i>	— (—)	— (—)	— (—)	— (+)	— (+)	+
<i>B. prodigiosum</i>	— (+)	+	+	+	+	+

Tabelle III.

Übersicht der Hemmungsversuche mit den Farbstoffen.

Die Farbstoffe sind nach chemischen Gruppen ohne Rücksicht auf basischen oder sauren Charakter angeordnet. In der Überschrift ist der Name und die Provenienz des Farbstoffs angegeben. G = Dr. Grübler & Co., Leipzig; M = E. Merck, Darmstadt; K = Kahlbaum, Berlin-Adlershof; H = Höchster Farbwerke; By = Farbenfabriken vorm. Bayer & Co., Elberfeld; B = Badische Anilin- und Soda-fabrik, Ludwigshafen a. Rh. Die römische Zahl bedeutet die Farbstoffgruppe, die arabische die Nummer in den Tabellen von Schultz-Julius. b = basisch; s = sauer; ss = sulfosaure Farbstoff; al = alkohollöslich; aul = alkalisch; ll = leicht löslich; wl = wenig löslich; ael = ätherlöslich; bl = benzollöslich; * große Einsaat von Agarbelag.

+ + + = normales ungehemmtes Wachstum; + + = mäßiges Wachstum; + = schwaches Wachstum; einz.K = 100–200 Einzelkolonien; viele K = 300–500 Einzelkolonien; s. viele K = 500–2000 Einzelkolonien; ein.K = 3–10 Einzelkolonien; sch = schleimiges Wachstum; fl. = flaches, trockenes Wachstum; A = Ausschwärm normal; m.A = mäßiges Ausschwärm; schw.A = schwaches Ausschwärm; k.A = kein Ausschwärm; Fl = Fluoreszenz; Entf = Entfärbung des Agars; m.Entf = mäßige Entfärbung; Kond = Kondensation des Farbstoffs im Bakterienbelag; n.g.gel. = nicht ganz gelöst; f.g. = fast gelöst; kl. = klein; gr. = groß; Ag. = Agar.

	Aurantia G I 2 s al					Martiusgelb M I 4 s al					Naphthol- gelb G I 4 s al		
	1/300 n.g.gel.	1/1000 f.gel.	1/3000	1/6000	1/12000	1/300 n.g.gel.	1/1000 n.g.gel.	1/3000 f.gel.	1/6000	1/12000	1/30000	1/40000	1/100 n.g.gel.
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	++	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	++	++	++	++	—	—	—	—	+	++	++	—
B. coli	++	++	++	++	++	—	—	—	++	++	++	++	—
B. pneumoniae	++	++	++	++	++	—	—	—	++	++	++	++	—
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	—	—	++	++	++	++	++	—
B. vulgare	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	++	—
V. cholerae	—	—	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
No.	1*	2*	3*	4	5	6*	7*	8*	9	10	11	12	13

	Naphthol- gelb G I 4		Naphtholgelb S pat B I 6		Sonnen- gelb G II 7		Thiazol- gelb G III 15		Chrysoidin G IV 17 b al					Chromo- trop 2 R G IV 26		Woll- violett SBIV 40		Janus- grün G IV 88	
	1/ 10000	1/ 100 n.g.gel.	1/ 100 n.g.gel.	1/ 800	ss a ul	ss a ul	ss al	1/ 100	1/ 200 n.g.gel.	1/ 500 n.g.gel.	1/ 3000	1/ 5000	1/ 10000	ss a wl	ss al	1/ 800	1/ 4000	b	
B. anthracis Sarcina tetragena Micr. pyogenes α Micr. candidans Coryneb. diphtheriae Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	++ ++ sch	++ ++ sch	++ ++ sch	++ ++ sch	—	—	—	—	—	++ ++ sch	++ ++ sch	++ ++ sch	ein.K einz.K einz.K einz.K —	—	
	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	
	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	
	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	
	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	
	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	—	—	—	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	—	—	
B. typhi B. coli B. pneumoniae B. pyocyaneum B. vulgare V. cholerae	++ ++ ++ sch ++ ++	++ ++ ++ sch ++ ++	++ ++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ sch ++ ++	++ ++ ++ sch ++ ++	++ ++ ++ sch ++ ++	— — — einz.K Fl — —	ein.K — — — ++ Fl	15 K 15 K — ++ Fl	++ ++ ++ ++ fl. ++ Fl	++ ++ ++ ++ sch ++ Fl A —	++ ++ ++ ++ sch ++ ++ A ++	++ ++ ++ ++ sch ++ ++ A ++	++ ++ ++ ++ sch ++ ++ A ++	++ ++ ++ ++ sch ++ ++ A ++	++ ++ ++ ++ sch ++ ++ A ++	
	14	15	16	17	18	19*	20*	21*	22*	23	24	25*	26						

	Azophosphin G IV 45 b awl		Neuphosphin G IV 54 b		Janus- grün G IV 88 b	Metanilgelb extra K IV 91 ss all ael bl	Helianthin G IV 99 ss all aewl bl	Methyl- orange M IV 96 ss	Azosäuregelb M IV 99 ss all aewl bl
	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{6000}$	$\frac{1}{100}$ f.gel.	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{300}$
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	ein.K einz.K	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	+	—	ein.K	sch. einz.K	—	—	+	—
Micr. candidans	—	—	—	—	einz.K	—	—	+	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	+	—
B. typhi	einz.K	+	+	+	+	+	+	+	+
B. coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. pneumoniae	—	+	+	+	+	—	+	+	+
B. pyocyaneum	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. vulgare	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. cholerae	k.A	—	+	+	+	k.A	+	+	+
No.	27	28	29	30	31	33*	34	35	36
	37	38	39						

	Azosäuregelb M IV 99 ss all acwl bl		Tropäolin 00 G IV 97 ss al ael bul		Naphthol Orange α K IV 102 ss all		Naphthol-Orange β K IV 103 ss all			Azorubin S K IV 112 ss		Neococcin K IV 16 ss awl		Janusrot G IV 164 b al			
	1/500	1/1000	1/100 n.g.gel.	1/200	1/100	1/33 n.g.gel.	1/100	1/2500	1/100	1/100	1/300 n.g.gel.	1/5000	1/10000	1/30000			
B. anthracis	—	20 K gr. u. kl.	+	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	ein. K			
Sarcina tetragena	—	ein. K gr. u. kl. fl.	—	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	++			
Micr. pyogenes α	++	++	—	++	sch	sch	sch	sch	sch	fl.	—	—	—	sch			
Micr. candidans	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	++			
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	++			
Coryneb. pseudodiphth.	—	++	—	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	++			
B. typhi	ein. K	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
B. coli	gr. u. kl. ein. K	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
B. pneumoniae	gr. u. kl. 10 K	++	++	++	++	++	++	++	++	++	15 K	++	++	++			
B. pyocyaneum	sch ++	sch ++	sch —	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++			
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
V. cholerae	m. A —	A —	m. A —	A ++	k. A ++	A ++	schw. A ++	A ++	A ++	A ++	schw. A ++	A ++	A ++	A ++			
No.	40	41	42*	43*	44*	45*	46*	47*	48	49	50	51	52	53			

	Echtrot A G IV 121 ss all	Biebricher Scharlach M IV 179 ss al	Croceine- Scharlach 7 B IV 185 ss	Brilliant- schwarz B IV 200 ss	Naphtolschwarz B K IV 200 ss	Diamant- schwarz G IV 203 ss al	Bismarckbraun G IV 209 b all	Brilliant- congo G K IV 223 ss	Chrysamin G IV 253 s	Azoblan K IV 287 ss	Diaminblau B M IV 299 ss aul
	$\frac{1}{300}$ n.g.gel.	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{200}$ n.g.gel.	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1000}$ n.g.gel.	$\frac{1}{100}$ n.g.gel.	$\frac{1}{100}$
B. anthracis	++	++	++	++	++	++	—	—	—	++	++
Sarcina tetragena	++	++	++	++	++	++	—	—	++	++	++
Micr. pyogenes α	sch	sch	++	kl.u.gr.	kl.u.gr.	sch	—	—	sch	sch	fl.
Micr. candidans	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. diphtheriae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. pseudodiphth.	++	++	++	++	++	++	—	—	++	++	++
B. typhi	++	++	++	++	++	++	—	—	++	++	++
B. coli	++	++	++	++	++	++	—	—	++	++	++
B. pneumoniae	sch	sch	sch	++	++	++	—	—	++	++	sch
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	A	A	A	k.A	k.A	A	ein.K k.A	++	++	++	A
	++	++	++	++	++	Ag. braunrot	—	—	++	++	++
No.	54*	55*	56	55*	57	58	60*	61	63	64*	65

	Hessisch Bordeaux G IV 330 ss	Rosazurin B G IV 276 ss		Trypan- rot G ss	Oxamin- marron G	Auramin M V 401 b al					Malachitgrün chem. rein krist. H VI 403 b al		
		1/100 n.g.gel.	1/300			1/100 n.g.gel.	1/200 n.g.gel.	1/500	1/1000	1/3000	1/3000	1/10000	1/30000
B. anthracis	++	+	++	++	1/100 n.g.gel.	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	++	1 K	++	++	einzel.K gr.u.kl.	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	sch	++	sch	sch	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	++	—	++	++	einzel.K	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	++	+	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	—	++	++	++	—	—	—	—	++	—	einzel.K gr.u.kl. Entf	++ Entf
B. coli	++	++	++	++	++	—	—	—	—	++	—	einzel.K gr.u.kl. Entf	++ Entf
B. pneumoniae	++	—	++	++	++	—	—	—	—	++	1 K	++	++
B. pyocyaneum	sch	++	sch	sch	sch	++	++	++	++	sch	++	++	sch. Entf
B. vulgare	++	++	Fl	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	k.A	m.A	A	A	schw.A	++	++	++	++	++	20 K	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	k.A	++	A	Entf	++	A Entf
No.	66*	67	68	69	70	71*	72*	73*	74	75	76	77*	78

	Malachitgrün chem. rein krist. H VI 403 b al		Firnblau G VI 408 b al		Aethylgrün G VI 404 b al				Guinea- grün B K VI 409 ss al		Lichtgrün F S G VI 410 ss al		Erio- grün VI 412 ss al		Chrom- grün G VI 419 ss al	
	1/50000	1/120000	1/30000	1/120000	1/60000	1/40000	1/240000	1/480000	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100
B. anthracis	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Sarcina tetragena	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Micr. pyogenes α	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Micr. candidans	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. diphtheriae	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. pseudodiphth.	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. typhi	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
No.	79	80	81	82	83	84	85	86	87*	88*	89*	90				

	Chromgrün G VI 419 s al				Patent- blau A K VI 418 ss awl	Echtgrün G IX 510 s al				Fuchsin G VI 424 b al aenl			
	1/8000	1/10000	1/30000	1/100000		1/100	1/200 n.g.-gel.	1/500 n.g.-gel.	1/5000	1/5000	1/100	1/500	1/1000
B. anthracis	—	—	ein.K Entf	++	—	—	—	—	4 K	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	++ sch	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	++ Entf	++	—	—	—	—	++	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	++ Entf	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	++ Entf	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	++ Entf	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++	++	—	—	—	+	—	ein.z.K	++	++
B. coli	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++	++	—	—	—	++	—	ein.z.K	++	++
B. pneumoniae	++ sch Entf	++ sch Entf	++ sch Entf	++	++ sch	—	—	—	++	—	ein.z.K	++	++
B. pyocyaneum	++ Fl Entf	++ Fl Entf	++ Fl Entf	++	++ Fl	—	++ Fl	++	++	ein.K	++	++	sch
B. vulgare	++ A Entf	++ A Entf	++ A Entf	++	++ A	—	—	—	++	ein.K unten	++ k.A	++	++
V. cholerae	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++	++ A	—	—	—	—	—	—	++ einz.K	++
No.	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100*	101*	102*	103

te Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 5/7.

30

Erste Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 5/7.

	Fuchsin G VI 424 b al aeu					Fuchsin reduziert mit Na ₂ SO ₄	Endo-Agar (mit 1% Laktose und reduziertem Fuchsin)	Fuchsin ss au S G VI 434		Dahlia G VI 426 b			
	1/60000	1/150000	1/300000	1/600000	1/1200000	1/100	1/2000 (normal)	1/300	1/38	1/100	1/6000	1/80000	1/1200000
B. anthracis	—	—	—	—	++ Entf	—	einz. K	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++ schw. Entf	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	++ Entf	—	10 K	—	++ schw. Entf	++ Entf	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	++ m. Entf	—	—	—	++ schw. Entf	++ Entf	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	10 K	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	20 K	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++	++	++	++	m. Entf	++	++	++	++	Entf	++	m. Entf	m. Entf
B. pneumoniae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	fl.	++	++	++
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++
V. cholerae	3 K	++	++	++	++	++	++	++	++	A. Entf	++	++	++
No.	104	105	106	107	108	109*	110	111*	112*	113*	114	115	116

	Dahlia G VI 426 b		Kristallviolett H VI 428 b al										Aethylviolett G VI 429 b al	
	1/240000	1/480000	1/200	1/1000	1/10000	1/80000	1/40000	1/190000	1/240000	1/480000	1/1000000	1/1000000	1/6000	1/60000
	1/240000	1/480000	1/200	1/1000	1/10000	1/80000	1/40000	1/190000	1/240000	1/480000	1/1000000	1/1000000	1/6000	1/60000
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ein.K	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—	—
Micr. candidans	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ein.K	—	—	—
B. typhi	+++ Entf	+++ Entf	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	+++ Entf	+++ Entf	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	+++ sch	+++ sch	—	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	—	ein.K sch. kl. u. gr. +++ Fl
B. pyocyaneum	+++ Fl	+++ Fl	+	+++	+++	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++	+++ k.A
B. vulgare	+++ A	+++ A	—	+++ k.A	+++ k.A	+++ schw.A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ k.A	+++ k.A
V. cholerae	+++	+++	—	++	—	—	—	++	+++ m.Entf	+++ Entf	+++ Entf	+++ Entf	—	++

30*

No.

	Aethylviolett G VI 429 b al		Säureviolett 6 B A G VI 439 ss al		Bayrischblau G VI 450 ss			Bayrischblau K VI 450 ss		Reinblau extra dopp. konz. HVI 452 ss aul		Rotblau M		Methylgrün G VI 475 b	
	1/200000	1/400000	1/100	1/100	1/1000	1/6000	1/100	1/100	1/1000	1/33	1/100	1/100	1/200	1/500	
B. anthracis	—	—	++	++	++	Entf	++	++	++	+	+	++	—	—	
Sarcina tetragena	—	—	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
Micr. pyogenes α	—	—	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
Micr. candidans	—	—	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	+	++	Entf	++	++	++	—	+	++	—	—	
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
B. typhi	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	ein.K	
B. coli	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
B. pneumoniae	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	ein.K	—	
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	+	++	Entf
B. vulgare	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	ein.K	—	
V. cholerae	++	++	++	++	++	Entf	++	++	++	++	++	++	—	—	
No.	130	131	132*	133	134	135	136	137	138*	139*	140*	141*	142		

	Methylgrün G VI 475 b			Rosolsäure G ss al			Corallin wasserlöslich K VI 457 s al						Viktoria- blau BG VI 461 b all
	1/1000	1/8000	1/10000	1/10000	1/80000	1/60000	1/100	1/200	1/800	1/1000	1/6000	1/15000	
B. anthracis	—	—	—	—	—	1 K ++ sch	—	—	—	—	—	—	einzel.K ++ sch
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	++ ++ ++	—	—	—	—	—	—	++ ++ ++
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. caudicans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	einzel.K	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	—	—	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++
B. coli	einzel.K	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	—	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++
B. pneumoniae	—	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	—	5 K sch	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	—
B. pyocyaneum	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	—	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++
B. vulgare	einzel.K m.A Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	—	1 K k.A	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ k.A
V. cholerae	—	—	++	—	einzel.K	++ ++	—	—	—	—	20 K	++ ++	++ ++
No.	143	144	145	146*	147*	148	149	150	151	152	153	154	155*

	Viktoriablan B G VI 461 b all					Viktoriablan 4 R M VI 464 b al					Viktoriagrün G VI 307 g al				
	1/3000	1/10000	1/80000	1/100000	1/1000000	1/10000	1/80000	1/100000	1/1000000	1/1000000	1/1000000	1/200000	1/400000	1/800000	1/900000
	1/3000	1/10000	1/80000	1/100000	1/1000000	1/10000	1/80000	1/100000	1/1000000	1/1000000	1/1000000	1/200000	1/400000	1/800000	1/900000
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
No.	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168		

	Nachtblau G VI 463 b all										Pyronin G VII 468 b al		
	1 200 n.g.gel.	1/1000	1/3000	1/8000	1/15000	1/30000	1/60000	1/120000	1/200	1/33	1/500 n.g.gel.	1/2000	1/6000
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	1 K	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	1 K	—	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—
B. typhi	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	viele K m.Entf	+++
B. coli	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	20 K Kond	+++
B. pneumoniae	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B. pyocyaneum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B. vulgare	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
V. cholerae	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
No.	169*	170	171	172	173	174	175	176	177*	178*	179*	180	181

	Pyronin G VII 468 b al				Acridinrot G VII 470 b al		Rhod-amin BG VII 479 b all					Urauin A B VII 487 s al				
	1/15000	1/80000	1/60000	1/150000	1/1000	1/6000	1/30000	1/200	1/25	1/50	1/100	1/500	1/1000			
B. anthracis	—	—	10 K 1 gr. 9 kl.	++ Entf 10 K	—	—	++ Entf ++	—	einz. K	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	sch 30 K	++ Entf	—	5 K	sch. Entf ++	—	sch ++	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	4 K	kl. u. gr.	++ Entf	—	—	30 K gr. u. kl.	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	++ Entf	—	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	++ Entf	—	—	++ Entf	—	++	++	++	++	++	++	++	++
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ m. Entf	++ m. Entf	++ Entf	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++ m. Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ m. Entf	++ m. Entf	++ Entf	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	++ sch	++ sch	++ sch	++ sch	++ sch. m.	++ sch. m.	++ sch. Entf	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ Entf	++ F1 m.	++ F1 m.	++ F1 Entf	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	++ m. A	++ A	++ A	++ sch. w. A	++ sch. w. A	++ A m.	++ A Entf	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	—	Entf 10 K	Entf s. viele K	—	—	++ m. Entf	++ Entf	++	6 K	einz. K	—	20 K	15 K	—	—	—
No.	182	183	184	184a	185	186	187	188*	189	190	191	192	193			

	UraninG VII 487 s al		Ag-Fluoreszein By s al				Hg-Fluoreszein By s all				Chrysolin G VII 487 s al					
	1/83	1/10000	1/17000	1/30000	1/100000	1/132500	1/250000	1/500000	1/1000000	1	1/100	1/300	1/1000	1/5000	1/10000	1/100000
B. anthracis	viele K	—	++	++	++	—	—	—	s. viele K	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	++	++	++	—	—	++	++	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	30 K	—	++	++	++	20 K gr.u.kl.	s. viele K	++	++	—	—	—	—	ein.K	—	+
Micr. candidans	++	—	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	+	+	+
Coryneb. diphtheriae	1 K	—	—	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	+	—	++	++	++	—	viele K gr.u.kl.	++	++	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	—	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	—	—	++	++	++	2 K A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	++	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
No.	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203*	204	205	206	207		

	Methyleosin K VII 492 s all			Erythrosin B K VII 494 s al			Rose bengale G VII 498 s al			Rose bengale G VII 500 s al		
	1/100	1/300	1/1000	1/100	1/300	1/1000	1/100	1/300	1/1000	1/100	1/300	1/1000
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. pneumoniae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. pyocyaneum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. vulgare	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. cholerae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No.	208	209	210	211*	212	213	214*	215	216	217	218	219

	Cyanosin G VII 499 s al								Eosin wasserlöslich gelblich G s al		Eosin wasserlöslich bläulich G VII 494 s al	Phloxin VII 495 altes Präparat s al	
	1/500	1/1000	1/8000	1/10000	1/800	1/1000	1/3000	1/10000	1/100	1/300	1/100	1/100	1/300
	1/500	1/1000	1/8000	1/10000	1/800	1/1000	1/3000	1/10000	1/100	1/300	1/100	1/100	1/300
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. pneumoniae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. pyocyaneum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. vulgare	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. cholerae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No.	220*	221*	222*	223*	224	225	226	227	228	229	230*	231*	232*

	Phloxin VII 495 altes Präparat s al			Phloxin R B V M VII 495 s al		Gallein G VII 501 s awl		Coerulein G VII 503 s awl			Acridin-Orange G VIII 505 b al		Phosphin G VIII 508 b al		
	1/1000	1/3000	1/10000	1/300	1/1000	1/500 wen.gel.	1/5000 n.g.gel.	1/1000 n.g.gel.	1/5000 obg.gel.?	1/10000 obg.gel.?	1/1000 n.g.gel.	1/6000	1/500	1/1000	
B. anthracis Sarcina tetragena Micr. pyogenes α Micr. candidans Coryneb. diphtheriae Coryneb. pseudodiphth.	— ++ ++ ++ —	— ++ ++ ++ —	++ ++ ++ ++ ++	— — 1 K — —	++ — ++ — einz.K	— — — — —	— fl. ++ ++ —	— fl. ++ ++ —	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	— — einz.K — —	++ ++ ++ ++ ++	— — — — —	— — — — —	
	++ ++ sch ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ sch ++	++ ++ ++ sch ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ sch ++
	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
B. typhi	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
B. coli	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
B. pneumoniae	++ ++ ++ sch ++	++ ++ ++ sch ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ sch ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
B. pyocyaneum	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
B. vulgare	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
V. cholerae	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
No.	233*	234*	235*	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	246

	Phosphin G VIII 508 b al		Naphthol- grün BG IX 514 ss		α Nitroso- β Naphtol K IX 512 s al						Purpurin G X 533 s all aell bli			Alizarin K X 523 s aul	
	1/3000	1/10000	1/100	1/1000 n.g.gel.	1/5000 n.g.gel.	1/80000	1/60000	1/120000	1/240000	1/50000	1/1000 n.g.gel.	1/5000 n.g.gel.	1/15000	1/1000	
B. anthracis	—	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	—	—
Sarcina tetragena	—	++ sch	++ sch	—	—	—	—	++ sch	++ sch	++ sch	—	++ sch	++ sch	+	+
Micr. pyogenes α	—	++	++	—	—	—	—	++ s. viele K	++	++	—	++	++	++	++
Micr. candidans	—	++	++	—	—	—	—	++	++	++	—	++	++	++	++
Coryneb. diphtheriae	—	++	++	—	—	—	—	—	++	++	—	++	++	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	++	—	—	—	+	++	++	++	—	++	++	++	++
B. typhi	++	++	++	—	—	ein. K	ein. K gr. u. kl.	++	++	++	++	++	++	—	—
B. coli	++	++	++	—	—	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
B. pneumoniae	++	++	++	—	—	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
B. pyocyaneum	sch	sch	sch	—	—	sch	sch	sch	sch	sch	sch	sch	sch	++	++
B. vulgare	++	++	++	—	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	k.A 1 K	A	schw. A	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++	m.A	m.A
No.	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259		

	Alizarin K X 253 s aul		Alizarinblau S G X 528 s awl					Alizarincyanin G X 545 ss				Anthracenblau G X 529 s aul			
	1/5000	1/10000 n.g.gel.	1/10000	1/5000	1/10000	1/30000	1/1000	1/10000	1/3000	1/10000	1/1000	1/3000	1/1000	1/3000	1/1000
B. anthracis	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
Sarcina tetragena	+++ sch	—	—	—	—	+++ sch	—	—	—	—	—	—	—	—	+++ sch
Micr. pyogenes α	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
Micr. candidans	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
Coryneb. diphtheriae	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
Coryneb. pseudodiphth.	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
B. typhi	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
B. coli	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
B. pneumoniae	+++ sch	—	—	—	—	+++ sch	—	—	—	—	—	—	—	—	+++ sch
B. pyocyaneum	+++ Fl	—	—	—	—	+++ Fl	—	—	—	—	—	—	—	—	+++ Fl
B. vulgare	+++ A	—	—	—	—	+++ A	—	—	—	—	—	—	—	—	+++ A
V. cholerae	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
No.	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274

	Capriblau G XII 556 b al						Galloyanin G XII 559 b al			Nilblau-Sulfat G XII 580 b al			
	1/300	1/2000	1/6000	1/15000	1/60000	1/120000	1/1000 n.g.gel.	1/10000	1/30000	1/200	1/1000	1/8000	1/10000
B. anthracis	—	—	—	—	—	+++ Entf sch	—	++	+++ m.Entf	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	+++ sch.m. Entf	—	+++ sch.m. Entf	+++ sch.m. Entf	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	+++	—	+++ m.Entf	+++ m.Entf	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	+++	—	+++ schw. Entf	+++ schw. Entf	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	+++	—	viele K kl.	+++ Entf	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	++	—	+++ m.Entf	+++ m.Entf	—	—	—	—
B. typhi	—	—	++	+++ m.Entf	+++ m.Entf	+++ Entf	++	++	+++ Entf	++	++	++	++
B. coli	+++	++	++	+++ m.Entf	+++ m.Entf	+++ Entf	++	++	+++ m.Entf	++	++	++	++
B. pneumoniae	—	20 K sch	+++ sch	+++ sch.m. Entf	+++ sch.m. Entf	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch.m. Entf	++	+++ sch	+++ sch	+++ sch
B. pyocyaneum	+++	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl m. Entf	+++ Fl m. Entf	+++ Fl	++	+++ Fl	+++ Fl	++	++	++	++
B. vulgare	—	ein.K A	+++ A	+++ A m. Entf	+++ A m. Entf	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ m.A	+++ A
V. cholerae	—	—	—	—	—	+++ Entf	—	+++ m.Entf	+++ m.Entf	+++	+++ einz.K	+++ ein.K	++
No.	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282*	283	284	285

	Nilblau-Sulfat G XII 580 b al		Brillantkresylblau G XII 557 b					Methylenblau G XII b 588 b awl				
	1/15000	1/30000	1/1000	1/6000	1/30000	1/60000	1/200	1/1000	1/8000	1/6000	1/15000	1/30000
B. anthracis	—	—	—	—	10 K	+++ Entf	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	ein.K	—	—	+	+++ sch	—	—	—	—	—	++
Micr. pyogenes α	—	++	—	—	einz.K	+++ Entf	—	—	+	—	++	++
Micr. candidans	—	++	—	—	einz.K	+++ Entf	—	—	+	—	—	++
Coryneb. diphtheriae	—	einz.K	—	—	einz.K	+++ Entf	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	+	+++	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	+++ m.Entf	—	+++ m.Entf	+++ Entf	+++ Entf	++	++	++	++	++	+++ m.Entf
B. coli	++	+++ m.Entf	einz.K kl.u.gr.	+++ m.Entf	+++ Entf	+++ Entf	++	++	++	++	++	+++ m.Entf
B. pneumoniae	+++ sch	+++ sch.m. Entf	—	+++ sch.m. Entf	+++ sch.Entf	+++ sch	einz.K sch	ein.K sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch.m. Entf
B. pyocyaneum	++	+++ Fl m. Entf	++	+++ Fl m. Entf	+++ Fl Entf	+++ Fl Entf	++	++	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl m. Entf
B. vulgare	++ A	+++ A m. Entf	einz.K k.A	+++ m.A m. Entf	+++ A Entf	+++ A Entf	+++ k.A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A m. Entf
V. cholerae	++	+++	—	—	—	—	+	—	—	—	—	einz.K
No.	286	287	288	289	290	291	292*	293*	294	295	296	297

	Methylengrün G XII b 589 b awl						Thionin G XII b 590 b awl				Toluidinblau K XII b 592 b al		
	1/500 n.g.gel.	1/500	1/1000	1/8000	1/10000	1/20000	1/700	1/500	1/3000	1/10000	1/100 n.g.gel.	1/500 n.g.gel.	1/3000
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ein.K m.Entf	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ein.K m.Entf sch. Entf	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	++	—	—	—	++ m.Entf	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	++ m.Entf	—	—	—	—	++ m.Entf	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	ein.K gr.u.kl.	++	++ m.Entf	++ m.Entf	—	++	s.viele K kl.u.gr. Kond	++ m.Entf	+	++	++
B. coli	++	++	—	++	++ m.Entf	++ m.Entf	—	++	++ Kond	++ m.Entf	++	++	++
B. pneumoniae	—	—	ein.K	++ sch	++ m.Entf	++ sch.m. Entf	++ sch	++ sch	++ sch	++ sch	++ fl.	++ sch	++ sch
B. pyocyaneum	++	++	++ schw. Entf	++ Fl schw. Entf	++ Fl m. Entf	++ Fl m. Entf	++ ein.K	++	++ Fl	++ Fl	++	++	++ Fl
B. vulgare	—	—	++ K A	++ m.A m.Entf	++ A m. Entf	++ A Entf	++ k.A	++ k.A	++ Kond	++ m.A.m. Entf	++ k.A	++ k.A	++ m.A
V. cholerae	—	—	—	—	ein.K	—	—	—	—	—	—	++	—
No.	298*	299	300	301	302	303	304*	305	306	307	308*	309*	310

Erste Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 5/7.

31

	Toluidinblau K XII b 592 b al		Flavindulin G XIII a 597 b				Neutralrot XIII b 599 b all				Neutralviolett G XIII b 598 b		Neutralblau G XIII c 605 b all	
	1/10000	1/30000	1/6000	1/30000	1/120000	1/100 n.g.gel.	1/300	1/500	1/1000	1/6000	1/30000	1/6000	1/30000	
B. anthracis	vieleK	++	—	—	—	—	—	—	—	1 K	++	—	—	
Sarcina tetragena	kl.u.gr. einz.K	Entf +	—	—	ein.K sch	—	—	—	—	—	++ fl.	—	—	
Micr. pyogenes α	++	+++	—	5 K	einz.K	ein.K	—	—	++	einz.K	++	—	++ m.Entf ein.K	
Micr. candidans	++	+++	—	—	ein.K	—	—	—	++	ein.K	++	—	—	
Coryneb. diphtheriae	—	kl. ++	—	—	ein.K	—	—	—	—	—	+	—	—	
Coryneb. pseudodiphth.	—	++	—	—	ein.K	—	—	—	—	—	einz.K	—	—	
B. typhi	++	++	einz.K	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
B. coli	++	++	einz.K	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
B. pneumoniae	++	++	gr.u.kl. ein.K	einz.K	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
B. pyocyaneum	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	sch ++	
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
V. cholerae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			

	Basler Blau G XIII c 606 b		Safranin rein G XIII d 611 b al				Fuchsia G XIII d 612 b all					
	$\frac{1}{1000}$ n.g.gel.	$\frac{1}{6000}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{3000}$	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{6000}$	$\frac{1}{15000}$	$\frac{1}{60000}$	$\frac{1}{120000}$
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. coli	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
B. vulgare	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	++	++	—	—	++	++	ein.K	++	++	++	++	++
31*												
No.	324	325	326*	327*	328	329	330	331	332	333	334	335

	Amethystviolett G XIII d 623 b al										Indazin G XIII d 626 b all				
	1/1000	1/5000	1/6000	1/15000	1/60000	1/120000	1/240000	1/480000	1/500	1/1000	1/3000	1/6000	1/15000		
	1/1000	1/5000	1/6000	1/15000	1/60000	1/120000	1/240000	1/480000	1/500	1/1000	1/3000	1/6000	1/15000		
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	—	einz.K	—	—	—	—	—	—	—
Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	—	—	einz.K	—	—	—	—	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	—	—	einz.K	—	—	—	—	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. coli	++	++	++	++	++	++	++	++	+	einz.K	++	++	++	++	++
B. pneumoniae	—	—	—	—	—	—	—	—	+	einz.K	++	++	++	++	++
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	25 K sch gr.u.kl. ++	einz.K sch gr.u.kl. ++	++	++	++	++	++
B. vulgare	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++	++
V. cholerae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
No.	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348		

	Indazin G XIII d 626 b all		Naphtalinrot G XIII d 630 b al				Indulin G XIII e 634 ss al		Nigrosin G XIII e 634 ss al	Indaminblau G XIII e 632 b		Paraphenylenblau G XIII e 635 b al		Primu- lin A K XIV 644 ss	
	1/60000	1/120000	1/300 n-g.gel.	1/1000	1/6000	1/30000	1/100	1/100	1/100	1/1000 n-g.gel.	1/6000	1/1000 n-g.gel.	1/6000	1/100	1/100
B. anthracis	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
Sarcina tetragena	—	30 K sch	—	—	—	4 K sch	+++ sch	+++	+++ sch	—	—	+++	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	—	20 K	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	10 K	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	ein.K	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	1 K	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
B. typhi	+++ m.Entf	+++ m.Entf	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B. coli	+++ m.Entf	+++ m.Entf	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B. pneumoniae	+++ sch.m. Entf	+++ sch.m. Entf	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch	+++ sch
B. pyocyaneum	+++ Fl m. Entf	+++ Fl m. Entf	+++	+++	+++ Fl	+++ Fl	+++	+++	+++	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++	+++
B. vulgare	+++ A m. Entf	+++ A m. Entf	+++ k.A	+++ k.A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ m.A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A
V. cholerae	+++ m.Entf	+++ m.Entf	20 K	ein.K	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
No.	349	350	351	352	353	354	355*	356*	357	358	359	360	361		

	Cyanin G XV 649 b al					Chinolinrot G XV 650 b al					Indig- schwefel- saures Natrium M XVI 656 awl ss	Resorcinschwarz M b			
	1/1000 n.g.gel.	1/6000 n.g.gel.	1/30000 n.g.gel.	1/120000 n.g.gel.	1/1000	1/6000	1/30000	1/300000	1/100	1/100		1/300	1/1000	1/3000	
B. anthracis Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	—	—	++ einz.K sch. gr.u.kl. ++	++ ++ ++ sch	—	—	—	—		
Micr. pyogenes α	—	—	—	einz.K gr.u.kl. ++ +	—	—	einz.K kl.u.gr. 20 K ++	++ +	++ ++ ++ ++	—	—	—	—		
Micr. candidans Coryneb. diphtheriae Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	++ ++ —	—	—	—	—	++ ++ ++ ++	—	—	—	—		
B. typhi B. coli B. pneumoniae	einz.K +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	—	—	—	+ einz.K kl.u.gr. —		
B. pyocyaneum	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ Fl	+++ +	+++ +	+++ Fl	+++ Fl	+++ +	++	++	++	++		
B. vulgare	+++ schw.A	+++ m.A Entf	+++ A	+++ A	+++ k.A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ m.A	—	—	1 K k.A	1 K k.A		
V. cholerae	—	einz.K	+++	+++	—	einz.K	+++	+++	20 K	—	—	—	—		
No.	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374		

	Resorcinwarz M b						Brillantschwarz B M b unbekannter Konstitution				Blindschielders Grün G X e b al			
	1/6000	1/15000	1/30000	1/60000	1/120000	1/240000	1/300 n.g.gel.	1/3000	1/10000	1/80000	1/100000	1/300	1/2000	1/6000
B. anthracis Sarcina tetragena	—	—	—	—	—	ein.K einz.K	—	—	—	ein.K 15 K sch 20 K	20 K einz.K	—	—	—
Micr. pyogenes α	—	—	—	—	+	einz.K gr.u.kl.	—	—	—	—	einz.K	—	—	—
Micr. candidans	—	—	—	—	—	ein.K	—	—	—	15 K 30 K 1 K	einz.K +	—	—	—
Coryneb. diphtheriae	—	—	—	—	—	einz.K	—	—	—	—	einz.K	—	—	—
Coryneb. pseudodiphth.	—	—	—	—	—	gr.u.kl.	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	++	++	++	++	++	++	—	++	Ag. rot- violett	++	++	—	—	viele K gr.u.kl.
B. coli	einz.K	++	++	++	++	++	—	++	Ag. rot- violett einz.K kl.u.gr.	++	++	—	—	25 K kl.u.gr.
B. pneumoniae	einz.K sch	ein.K sch	++	++	++	++	—	++	Ag. rotviol.	++	++	—	—	—
B. pyocyaneum	++	++	++	++	++	++	++	++	Ag. rot- violett	++	++	++	++	++
B. vulgare	ein.K k.A	++	++	++	++	++	1 K k.A	++	Ag. rot- violett einz.K k.A	++	++	—	—	einz.K A.Entf
V. cholerae	—	—	++	++	++	++	—	++	Ag. rotviol.	10 K	++	—	—	—
No.	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388

	Bindschielders Grün Gr. XIII e			
	$\frac{1}{15000}$	$\frac{1}{60000}$	$\frac{1}{120000}$	$\frac{1}{240000}$
<i>B. anthracis</i>	—	—	—	—
<i>Sarcina tetragena</i>	—	—	—	—
<i>Micr. pyogenes</i> α	—	—	—	einzel.K
<i>Micr. candidans</i>	—	—	—	einzel.K
<i>Coryneb. diphtheriae</i>	—	—	—	einzel.K
<i>Coryneb. pseudodiphth.</i>	—	—	—	einzel.K
<i>B. typhi</i>	3 K	einzel.K kl.u.gr.	+++ Entf	+++ Entf
<i>B. coli</i>	2 K	—	+++ Entf	+++ Entf
<i>B. pneumoniae</i>	—	—	30 K sch.gr.u.kl.	+++ sch.Entf
<i>B. pyocyaneum</i>	+++ Entf	+++ Fl Entf	+++ Fl Entf	+++ Fl Entf
<i>B. vulgare</i>	einzel.K A Entf	einzel.K A Entf	+++ m.A Entf	+++ A Entf
<i>V. cholerae</i>	—	—	—	—
No.	389	390	391	392

niedrig gegriffen. Im allgemeinen hat man den Eindruck, daß die Anilinfarbstoffe zu denjenigen Antiseptics gehören, die stark hemmen, bedeutend schwächer aber abtöten, oder mit anderen Worten, bei denen der Wirkungsbereich der untertödlichen, aber hemmenden Dosen sehr breit ist. Diese weitgehende Reversibilität der toxischen Wirkung würde gut stimmen zur ebenfalls ziemlich großen Reversibilität der Färbung,

Tabelle IV.

Zusammenstellung eigener und fremder Resultate betreffs der Toxizität, Permeabilität und des Kolloidzustandes der gebrauchten Farbstoffe.

Erklärung:

Rubrik 1. Name des Farbstoffs.

Rubrik 2. Chemische Gruppe, zu der er gehört, nach Schultz-Julius.

Rubrik 3. Wirksamkeitsgrenze für die gramnegativen Bakterien, und zwar für die widerstandsfähigsten.

Rubrik 4. Dgl. für grampositive Bakterien — in 3. und 4. sind reziproke Werte angegeben, also 100 für eine Verdünnung $\frac{1}{100}$. ± bedeutet schwache Beeinflussung der empfindlichsten Glieder der Gruppe, — keine Beeinflussung auch dieser.

Rubrik 5 gibt die „Lipoidlöslichkeit“ nach den Angaben von Overton, Ruhland und Höber. l = langsam.

Rubrik 6 gibt die Speicherung durch gequollene Lipide nach Overton. + vorhanden, ++ stark, ± schwach, ± sehr schwach, l = langsam; zwei Zeichen nebeneinander bedeuten divergierende Angaben zweier Autoren.

Rubrik 7 zeigt die Fällbarkeit verschiedener Farbstoffe durch CaCl_2 oder NiCl_2 nach den Angaben von Ruhland.

Rubrik 8 zeigt die Kapillardiffusibilität nach Ruhland — desto größer, je mehr der Bruch sich der Einheit nähert.

Rubrik 9 zeigt die Geldiffusibilität nach Ruhland. +++ stark, ++ mittelstark, + mäßig, ± schwach, — fehlt.

Rubrik 10 zeigt die Permeabilität der Farbstoffe nach Overton.

Rubrik 11. Dgl. nach Ruhlands erster Arbeit (1909).

Rubrik 12. Dgl. nach Küster.

Rubrik 13. Dgl. nach Ruhlands zweiter Arbeit (1912).

Rubrik 14 gibt die verschiedenen Angaben über die Toxizität der Farbstoffe: (F) nach Fischel, (Fr) nach Fraenkel, (Bl) nach Blaschko (bei Kobert), (Chl) nach Chlopin (bei Kobert), (K) nach Kobert, (W) nach Weyl (bei Kobert), (S) nach Santori (bei Kobert). t = toxisch, at = atoxisch, id = indifferent, Vf = Vitalfarbe, schlhr = schleimhautreizend, verd = verdächtig, tSp = toxisch für Spirogyren.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
A. Basische Farbstoffe.													
Chrysoidin	IV	1 000	10 000	+	++			++	++	++	++	++	at (W) Ekzeme (Bl) t (F) at (Fr) id Vf (F)
Janusgrün	"		6 000					stark				++	t Sp
Azophosphin	"		300	—								++	
Neuphosphin	"	100	500									++	
Janusrot	"		10 000									++	
Bismarckbrau	"	250	500	— ±	++			+	+	+		+	at (W) Ekzeme (Bl) Vf (F) t (Fr)
Auramin	V	300	3 000	+	++					++	++	+	t (Chl) t (F)
Malachitgrün	VI	3 000	60 000	±	++			+++	++	++	++	++	Ekzeme (Bl) t (F)
Aethylgrün	"	6 000	240 000										t (Chl) t (F)
Firnblau	"		60 000										
Fuchsin	"	100	120 000	+	++			++	++	++	++	++	Ekzeme (Bl) id (F) at (Fr)
Dahlia	"		1 000 000	+	++			+++	++	+++	+++	+++	t Vf (F)
Kristallviolett	"	100	1 000 000	+	++			+++	++	+++	+++	+++	t (S) id t Vf (F) at (Fr)
Aethylviolett	"		480 000										
Methylgrün	"	200	20 000	—	++			++	++	++	++	++	t (F)
Viktoria blau B	"		100 000	+				—	+	—	—	—	t (S) t (F)
Viktoria blau 4R	"		100 000	+				—	+	—	—	—	
Viktoria grün	"	10 000	1 000 000										
Nachtblau	"		120 000	+				—	—	—	—	—	
Acridinrot	VII		15 000										
Pyronin	"	400	120 000										id (F)
Rhodamin B	"		200	+	++ 1			+	+	±		+	id (F)
Acridin-Orange	VIII		3 000										t (F)
Phosphin	"		5 000										t (Fr)
Capriblau	XIIa	300	120 000										id t (F)
Gallocyanin	"		3 000										t (S)
Nilblau-Sulf.	"		30 000	±				++	++	++	++	++	Vf (F)
Brillantkresylblau	"		15 000										
Methylenblau	XIIb		15 000	+	++			+++	++	+++	+++	+++	at schlhr (K) t (S) Vf (F) at (Fr)
Methylengrün	"		10 000	±	++			+++	++	+++	+++	+++	verd (Chl)
Thionin	"		10 000	±	++			+++	++	+++	+++	+++	Vf (F)
Toluidinblau	"		10 000	±	++			++	++	++	++	++	Vf (F)
Flavindulin	XIIIa		60 000										
Neutralrot	XIIIb		1 000	+	++			+++	++	+++	+++	+++	Vf (F)
Neutralviolett	"		6 000										Vf etw. toxisch (F)
Neutralblau	XIIIc		30 000										
Basler Blau	"		3 000	+				—		—	—	—	t (F)
Safranin	XIIId		10 000	+	++			++	++	++	++	++	t (W) Ekzeme (Bl) id Vf (F) t (Fr)
Fuchsia	"		120 000										
Amethystviolett	"		480 000										
Indiazin	"		120 000										
Naphthalinrot	"		30 000										id t (F)
Indaminblau	XIIIe		6 000										
Paraphenylenbl.	"		— 2 000										
Bindschleidl. Gr.	"	2 000	240 000										t (F)
Cyanin	XV		120 000										id t Vf (F)
Chinolinrot	"		30 000										
Resorcinschwarz	?		240 000										
Brillantschwarz	?		30 000										

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
B. Säurefarbstoffe.													
Aurantia	I		12 000	+				—		—	—	—	Hautgift, Ekzeme (Bl) t (Chl) t (Fr)
Martiusgelb	„	3 000	40 000				0,68	—		+	—	—	Blutgift (W) t (F) t (Fr)
Naphtholgelb S	„		150			—	0,92	+++				+++	at (Fr)
Sonnengelb	II		—100			++	0,71	±				—	
Thiazolgelb	III		—100										
Chromotrop 2R	IV		—100								+		
Wollviolett S	„		—100										
Tropaeolin 00	„	100	100	±	±					+	—	+	at (W) id (F)
Naphthol-Orange α	„		±100	±	±					+	—		at (Fr)
Naphthol-Orange β	„		±100	±	±					+	—		at (W) at (Fr)
Azorubin	„		—100	±		+	0,83	++				++	
Neucoccin	„		—100										
Echtrot A	„		—100	+		+++	0,86				—	—	id (F)
Metanilgelb	„		500										t (W) (Chl) t (F) t (Fr)
Helianthin	„		±100										id (F)
Methylorange	„		±100	±	±	++	0,76	++		+	—	++	t (Chl)
Azosäuregelb	„	50	100										
Biebricher Scharl.	„		—100	—	±	++	0,71	+		—	+	+	at (W)
Crocein-Scharlach	„		—100										id (F)
Naphtholschwarz B	„		—100										
Diamantschwarz	„		100										
Brilliantcongo	„		100			+++	0,69	±				—	
Oxaminmarron	„		100	+				—			—	—	
Chrysamin	„		1 000			+++	0,58	—				—	
Azoblau	„		—100			+++	0,64	—				—	id (F)
Hessisch Bordeaux	„		—100										
Rosazurin B	„		100										
Tuchrot 3 GA	„		—100	+				—			—	—	
Trypanrot	„		—100										id (F)
Guineagrün B	VI		±100			±	0,80	+			+	+	
Lichtgrün FS	„		±100			—	1,00	+++			+	+++	
Erioglaucin	„		±100			—	1,00	+++			—	—	
Chromgrün	„		30 000	+		—		+++			—	+	++
Patentblau A	„		50			±	0,72	+			+	+	
Fuchsin S	„	—33	33	—	—						—	+	++
Säureviolett 6 BA	„		±100			+	0,84	±			—	+	id (F)
Bayrischblau	„		—100	—		++	0,92	—			—	—	at (S)
													Hämaturie (K) verd (Chl) id (F)
Reinblau	„		±33	—	—	+	0,93	—		—	—	—	Ekzeme (Bl) at (S) id (F)
Rotblau	„		—100										
Rosolsäure	„		60 000										
Corallin wl.	„	200	15 000										Ekzeme (Bl) t (F)
Nachtblau K	„		±33										
Uranin A	VII		±25										id
Ag-Fluoreszein	„	15 000	15 000										
Hg-Fluoreszein	„	12 500	12 500										
Chrysolin	„		10 000										
Methyleosin	„		1 000										
Erythrosin	„		1 000	+	—		0,75	+		—	+	+	
Rose beng. 4—4	„		1 000	+				±		—	—	+	id (F) at (Fr)
Rose beng. 4—2	„		1 000										

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Cyanosin	VII		3 000	+				—		—		—	
Eosin wl. gelbl.	"		100	±				±		—	+	+	id Vf (F)
Eosin wl. bl.	"		100										
Phloxin	"		1 000	±				±		—		+	id (F)
Gallein	"		3 000					—				—	
Coerulein	"		3 000										id (F)
Naphtholgrün B	IX		—100	—		±	1,00	+++				+++	at (W)
α-Nitroso β-Napht.	"	10 000	60 000										
Echtgrün	"	2 000	5 000										
Purpurin	X		5 000										
Alizarin	"	500	500										Vf (F)
Alizarinblau S	"		10 000										id (F)
Anthracenblau	"		100										
Alizarin-Cyanin	"		3 000										
Indulin wl.	XIIIe		—100		—	++	0,91	—	—	—	—	—	id (F)
Nigrosin	"		±100		—				—	—	—	—	id (F)
Primulin	XIV		±100	—			0,80	—		—	—	—	verd (Chl)
Natr. indigosulf.	XVI		—100	—	—					—	+		at (K) at (S)

die in Fällen schwacher Farbstoffe bereits durch Wasser, in anderen durch indifferente Lösungsmittel wie Alkohol, Aceton u. dgl. teilweise oder ganz rückgängig gemacht werden kann. Sporenabtötungsversuche habe ich noch nicht unternommen, die Rücksichten auf eventuelle Hemmungswirkungen müssen hier anbedachts der großen Empfindlichkeit der Auskeimung, zu ganz besonderen Kautelen veranlassen.

Uebersicht der Literaturangaben.

Es soll hier nicht die ziemlich beträchtliche Literatur über hemmende und abtötende Wirkung von Farbstoffen im ganzen besprochen, sondern es soll nur in Anbetracht der Wichtigkeit der hier eruierten Elektivität der Farbstoffwirkung an der Hand mancher Literaturangaben gezeigt werden, daß schon ziemlich viele Forscher über hierher gehörige Erscheinungen berichtet haben, freilich ohne ihre allgemeine Gesetzmäßigkeit und ihren Zusammenhang klar erkannt zu haben. Nachdem Koch und Behring zuerst den antiseptischen Charakter der Anilinfarben erkannt hatten, stellte Boer in einer größeren Vergleichsreihe über verschiedene Antiseptika auch mit ihnen Versuche an einer Reihe von Bakterien an. Hier seine uns interessierenden Resultate:

- a bedeutet Entwicklungshemmung in Bouillon,
b Abtötung frisch geimpfter Bouillon nach 2 Stunden,
c dito einer 24-stündigen Kultur.

	Malachitgrün			Methylviolett		
	a	b	c	a	b	c
B. anthracis (asporogen)	1/120000	1/40000	1/40000	1/70000	1/25000	1/50000
Corynebact. diphther.	1/40000	1/25000	1/8000	1/10000	1/3000	1/2000
B. mallei	1/5000	1/300	1/300	1/2500	1/200	1/150
B. typhi	1/5000	1/500	1/300	1/2500	1/200	1/150
V. cholerae	1/100000	1/25000	1/5000	1/30000	1/3000	1/1000

Ganz im Sinne der von mir gefundenen Elektivität sehen wir die zum Teil gewaltigen Unterschiede zwischen den gramnegativen B. typhi und B. mallei und den grampositiven Arten — ebenso die Mittelstellung des Choleravibrio. Diese Elektivität hat auch Behring bei Besprechung dieser Versuche veranlaßt, folgenden Satz auszusprechen: „Es ist bei keinem Mittel weniger angebracht, aus seiner Wirkung gegenüber einem

Mikroorganismus auf eine gleiche auch bei anderen zu schließen.“ Auch in seinem neuesten Buch sagt Behring in bezug auf diese Versuche folgende bemerkenswerte Sätze: „Von großer Wichtigkeit ist für die richtige Beurteilung der desinfizierenden Fähigkeit organischer Farbstoffe, daß dieselben nicht, wie die Metallsalze, als allgemeine antibakterielle Mittel anzusehen sind. Bei jenen hochkonstituierten Körpern tritt eine fast spezifisch zu nennende, sehr energische Wirkung auf einzelne Bakterienarten zutage, während andere Bakterienarten nur sehr wenig beeinflußt werden. Solche Mittel aber, die nicht für alle pflanzlichen Mikroorganismen Gifte sind, sondern die bloß auf einzelne Arten wirken, lassen noch am ehesten erwarten, daß sie die glückliche Eigenschaft besitzen, bestimmte Infektionsstoffe unschädlich zu machen, ohne für den Organismus des Menschen Gifte zu sein.“

Fast gleichzeitig mit den Boerschen Untersuchungen erschien eine Aufsehen erregende Mitteilung von Stilling über antiseptische Wirkungen von Pyoktaninen (Methylviolett, Auramin) bei der Behandlung eiternder Wunden und äußerer Augenerkrankungen. Die daran sich knüpfende ziemlich umfangreiche Literatur, die für oder gegen das Mittel Stellung nahm, ist für uns meist belanglos. Nur eine Arbeit — diejenige von Jaenicke — verdient durch die Exaktheit der Arbeitsmethode und die Fülle der mitgeteilten interessanten Tatsachen unsere aufmerksame Beachtung. Seine Untersuchungen betrafen die Entwicklungshemmung in Bouillon mit verschiedenen Zusätzen von Pyoktanin (Methylviolett 6 B = Kristallviolett). Er fand dabei folgende, noch wirksame Grenzwerte: *Microc. pyogenes* α $\frac{1}{2000000}$, *Bac. anthracis* $\frac{1}{1000000}$, *Bac. subtilis* $\frac{1}{1000000}$, *Streptococcus lanceolatus* $\frac{1}{2000000}$, *Streptococcus pyogenes* $\frac{1}{333000}$, *V. cholerae* $\frac{1}{62500}$, *Bact. typhi* noch nicht bei $\frac{1}{5000}$. In Blutserum waren die Werte für *Microc. pyogenes* und *Bac. anthracis* bei $\frac{1}{500000}$. Für Auramin findet er: *Bac. anthracis* $\frac{1}{10000}$, *Microc. pyogenes* $\frac{1}{5000}$, *Bac. typhi* nicht gehemmt bei $\frac{1}{5000}$. Wir sehen hier also volle Uebereinstimmung mit dem von uns eruierten Zusammenhang zwischen Gramfärbbarkeit und Empfindlichkeit gegenüber den Farbstoffen. Auch daß zwischen Giftwirkung und Färbung überhaupt ein enger Konnex besteht, ist Jaenicke aufgefallen; er schreibt darüber: „Das Eintreten einer gesättigten Tinktion darf also, wenigstens bei den vorliegenden Arten, als Ausdruck des erfolgten Todes angesehen werden, und die leicht färbbaren Arten wären mithin auch die leicht zerstörbaren. Es besteht also eine Beziehung zwischen der Färbbarkeit der Bakterien und ihrer vitalen Empfindlichkeit gegen das Methylviolett, die sicher nicht ganz zufällig ist. Es zeigt sich nämlich, daß diejenigen Bakterienarten, welche durch die Gegenwart des Methylvioletts am meisten beeinträchtigt werden, sich in destilliertem Wasser am schnellsten und intensivsten mit demselben färben.“ Darauf fußend, spricht nun J. für den *Gonococcus*, der mit Methylviolett äußerst leicht färbbar ist, die Vermutung aus, daß er sich dem Methylviolett gegenüber auch sehr widerstandsfähig zeigen müßte, eine Vermutung, die durch die Versuche von mir und Glück tatsächlich bestätigt wird.

Von anderen Angaben, die mit unseren Anschauungen übereinstimmen, wären diejenigen von Gasser zu nennen: Auf Agar mit ca. $1\frac{0}{100}$ Fuchsin versagte das Wachstum von *B. anthracis*, *B. mallei*, *V. cholerae*; es wuchs schwach der *Microc. pyogenes*, normal das *B. typhi*, *B. coli*, *B. fluorescens*. Kriegler untersuchte die Toxizität einer Reihe von basischen Farbstoffen auf *Microc. pyogenes*,

B. typhi, *B. paratyphi*, *B. coli*, *B. pyocyaneum*. Seine Resultate stimmen in vielen Fällen mit der oben dargelegten Gesetzmäßigkeit überein — jedoch nicht in allen. Er untersuchte die Abtötungszeit der auf Deckgläschen in dünner Schicht angetrockneten Bakterien in 1-promill. Farbstofflösungen. Ich gebe hier für manche Farbstoffe die Verhältniszahlen wieder, die die Abtötungszeiten von je zwei Bakterienarten dividiert ergeben. Stimmt unsere Verallgemeinerung, so müssen diese Zahlen, wenn im Nenner die Abtötungszeit für Staphylokokken, im Zähler diejenige für eine gramnegative Art zu stehen kommt, immer größer sein als 1, da ja die letztere größere Zeit zur Abtötung beansprucht, als der empfindlichere Staphylococcus.

	Abtötungszeiten.			
	<i>B. pyocyaneum:</i> <i>M. pyogenes</i>	<i>B. coli:</i> <i>M. pyogenes</i>	<i>B. paratyphi:</i> <i>M. pyogenes</i>	<i>B. typhi:</i> <i>M. pyogenes</i>
Methylviolett	2600	1600	1400	33
Malachitgrün	5	33	114	0,75
Metaphenylenblau	6	25	64	0,5
Magdalarot	100	200	230	16
Basler Blau	8	66	64	0,05
H ₂ SO ₄	0,04	0,04	0,25	0,01
HgCl ₂	0,06	0,25	0,25	—
Phenol	0,5	0,4	1,2	0,2

Wir ersehen aus der (von mir zusammengestellten) Tabelle daß im großen und ganzen die Resultate zu unserer Voraussetzung stimmen. Dies wird noch deutlicher, wenn man die zum Vergleich angeführten Verhältniszahlen für H₂SO₄, HgCl₂ und C₆H₅·OH mitberücksichtigt. Diese zeigen, daß die zum Teil außerordentlich größere Widerstandsfähigkeit der gramnegativen Bakterien gegenüber Farbstoffen keine allgemeine Eigenschaft ist, die auch bei diesen bestbekannten Antiseptici Geltung hätte. Umgekehrt zeigt sich hier meist der *Micrococcus pyogenes* deutlich zum Teil sogar den gramnegativen überlegen. Geringe Uebereinstimmung zeigt sich nur beim *B. typhi*, und diese scheint mir eben auf eine nicht unwichtige Fehlerquelle der Kriegler'schen Technik hinzuweisen. Nicht alle gebrauchten Bakterienarten sind gegen Austrocknen so widerstandsfähig, wie der *Microc. pyogenes*, den wir mit ihnen vergleichen, daher auch die Unstimmigkeiten beim *B. typhi*, das in dieser Hinsicht empfindlicher ist als die anderen. Deshalb habe ich auch eine Reihe von Farbstoffen, die sehr lange Abtötungszeiten beanspruchten, wo der Fehler also am meisten zur Geltung kommen dürfte, hier nicht mitberücksichtigt. Vay, der auf Agar mit 1‰—1/50000 *Dahlia* oder *Pfaublau* verschiedene Angehörige der Typhus-Coli-Ruhr-Gruppe sowie Pestbakterien züchten konnte, fand, daß Luftbakterien sowie Kokken (meist ja grampositiv) auf diesen Nährböden versagten.

Vor kurzem ist eine interessante Arbeit von Gebb erschienen, der eine größere Reihe von Farbstoffen am *B. duplex* (*Diplobacillus Morax-Axenfeld*), dem Erreger der Mehrzahl chronischer Bindehautentzündungen, prüfte und unter 60 im ganzen 36 stark abtötende fand, und zwar sowohl saure als basische. Freilich ist nach der Versuchsanordnung nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob wirklich Abtötung oder nur Entwicklungshemmung vorlag. Die zum Teil relativ hohen antiseptischen Werte, die das gramnegative Bakterium nach seiner Empfindlichkeit in die Nähe der grampositiven bringen, legen die Vermutung nahe, daß das anspruchsvolle Bakterium eine besondere Empfindlichkeit zeigt (etwa die ihm als gramnegativem zukommende plus eine spezifische

durch die Stoffwechselansprüche bedingte) etwa wie oben Hühnercholera oder *B. violaceum*. Die in jüngster Zeit veröffentlichten Untersuchungen von Zeiss befassen sich mit der antibakteriellen Wirkung des Eosins (gelbl.). Die an einer größeren Reihe verschiedener Bakterien erhaltenen Resultate zeigen die elektive Beeinflussbarkeit grampositiver Arten in deutlicher Weise. Auch Einzelheiten stimmen mit meinen Erfahrungen meist gut überein — so die besondere Empfindlichkeit des *B. violaceum*, des *B. melitense*, die große Empfindlichkeit sporentragender Stäbchen. Interessant ist, daß die von mir nicht untersuchten Mykobakterien und Aktinomyceten sich ebenfalls dem allgemeinen Gesetz fügen. Zeiss erwähnt auch eine kürzlich erschienene Arbeit von Churchman, der die Wirkung von Gentianaviolett auf 137 verschiedene Bakterienarten untersuchte und festgestellt haben soll, „daß gerade die grampositiven Arten mit verschwindenden Ausnahmen dem Gentianaviolett gegenüber sehr empfindlich sind, während dies bei den gramnegativen Organismen nicht der Fall ist“. Es wäre dies eine sehr erwünschte Bekräftigung und Erweiterung der von mir erhaltenen Resultate.

Versuche über die Ursachen der Elektivität.

Unsere Untersuchungen haben uns eine wichtige Differenz im biochemischen Verhalten grampositiver und gramnegativer Bakterien dargestellt und damit von neuem darauf hingewiesen, daß, wie ich schon früher hervorgehoben habe, die Unterscheidung dieser beiden Gruppen keine rein äußerliche, färberisch-differentialdiagnostische ist, sondern daß in dem verschiedenen Resultat einer subtilen Färbungsmethode bedeutende Konstitutionsunterschiede zum Ausdruck gelangen. Grampositive Arten sind nicht plasmolysierbar, d. h. permeabler (A. Fischer, Vahle, Nicolle u. Alilaire, Brudny, Verf.), sind gegenüber proteolytischen Fermenten und Laugen widerstandsfähiger (de Waele, Kantorowicz, Kruse, Bürgers u. Hösch). Durch spezifische Immunsere werden sie nicht bakteriolytisch beeinflusst, zur Gewinnung von Anaphylatoxin müssen von ihnen bedeutend größere Mengen verwendet werden als von gramnegativen (Aronson). Endlich, wie hier gezeigt wurde, sind sie durch die Anilinfarbstoffe färberisch und toxisch viel leichter beeinflussbar als jene. Die Tatsache, daß, wie z. B. aus den oben mitgeteilten Befunden von Kriegler erhellt, und, wie ich auch nach eigenen Erfahrungen bestätigen kann, gegenüber anderen Antiseptica durchaus keine geringere, oft sogar eine höhere Widerstandsfähigkeit bei den grampositiven besteht, spricht dafür, daß wir es hier nicht etwa mit einer allgemeinen größeren Debität und Empfindlichkeit zu tun haben. Ja noch mehr — die Erfahrungen mit einem Farbstoff (Pikrinsäure) und mit einer großen Reihe bestimmter Neutralsalze zeigen, daß gelegentlich die Skala der Empfindlichkeit eine Umkehrung erfahren kann, so daß in bestimmten Konzentrationen nur mehr die grampositiven wachsen, die gramnegativen gehemmt werden. Dies führt uns dazu, die gefundene Eigenart als wirkliche elektive Beeinflussung zu deuten und in das Gebiet der „halb-spezifischen“ Desinfektions- bzw. Hemmungswirkung zu verweisen. Mit diesem Namen hat nach einem Vorschlag P. Ehrlichs Bechhold im Gegensatz zur unspezifischen Wirkung vieler Antiseptika, die keine Auswahl unter verschiedenen Bakterienarten trifft und andererseits zur mehr oder weniger strikt spezifischen Wirkung verschiedener Immunantikörper diejenigen antibakteriellen Wirkungen belegt, die zwar nicht streng spezifisch eingestellt sind, aber weitgehende Verschiedenheiten in der Be-

einflussung verschiedener Bakterienarten aufweisen. Es erhebt sich nun für uns die Frage, worin ist die Elektivität dieser Wirkungen begründet? Nach den oben angeführten Tatsachen kann es nicht zweifelhaft sein, daß der Grund nicht allein in der verschiedenen Konstitution der beiden Bakteriengruppen gesucht werden darf, sehen wir doch gegenüber anderen Antiseptica ein ganz anderes, zum Teil umgekehrtes Verhalten. Andererseits dürfte es nach unseren Kenntnissen vom chemischen Bau der Farbstoffe kaum angebracht sein, diesen Grund ausschließlich in den Farbstoffen zu suchen, wissen wir doch, daß, abgesehen von ihrem optischen Verhalten, die Farbstoffe viele Verwandte unter der großen Legion aromatischer Verbindungen zählen, denen sie in bezug auf physikalisch-chemische und chemische Eigenschaften nahestehen. Wollen wir also in den Mechanismus dieser Elektivität tiefer eindringen, so müssen wir nach zwei Seiten hin unsere Fragen stellen: welcher Unterschied in der Konstitution (im weitesten Sinne) zwischen den beiden Bakteriengruppen ist imstande, die Elektivität unserem Verständnis näher zu bringen? Zweitens — wie müssen die Stoffe beschaffen sein, um die Bakterien in der beschriebenen Weise elektiv beeinflussen zu können?

Was den ersten Punkt betrifft, so bewegen wir uns leider hier noch immer unter Hypothesen. Die Grundtatsachen sind die größere Permeabilität der Grampositiven für Neutralsalze, ihre größere Aufnahmefähigkeit für Farbstoffe, ihre größere Empfindlichkeit gegenüber denselben. Für die letztere gibt es nun verschiedene Erklärungsmöglichkeiten: 1) die beiden Gruppen sind durch Eigenschaften ihres Protoplasmas verschieden empfindlich, 2) die grampositiven Bakterien sind empfindlicher, weil sie mehr Farbstoff aufnehmen, d. h. die Empfindlichkeit des Protoplasmas wäre die gleiche bei beiden Gruppen, nur gelangt bei den grampositiven der Farbstoff leichter und in größerer Menge herein — hat also mehr Gelegenheit, seine Giftwirkung zu entfalten. Mir erscheint die zweite Annahme richtiger, weil sie mit den mikroskopischen Befunden über die Farbstoffaufnahme sich deckt und weil wir für die erste gar keinen Anhaltspunkt haben. Nun aber weiter — warum wird der Farbstoff leichter und in größerer Menge aufgenommen? Wieder drei Möglichkeiten: entweder ist Permeabilität der Grampositiven auf Grund gewisser physikalisch-chemischer Eigentümlichkeiten ihres Protoplasmas bzw. seiner Plasmahaut größer oder der Eintritt kann bei beiden Gruppen in gleicher Weise erfolgen, aber der Farbstoff wird bei den Grampositiven stärker gespeichert, weil er hier mehr Affinitäten (gleichgültig welcher Natur) vorfindet, oder endlich dieselbe Beschaffenheit des Protoplasten bewirkt an der Grenzfläche leichteres Eindringen, im Innern bessere Haftung des Farbstoffs. Hier eine Entscheidung zu treffen, ist auf Grund der vorliegenden Kenntnisse über die Chemie und physikalische Chemie der Bakterienzelle kaum möglich. A. Fischer macht für die Gram-Differenzierung die größere Dichtigkeit des Zellkörpers bei den Grampositiven verantwortlich, ihm schließt sich Kruse an, wenn er auch die Möglichkeit des Bestehens chemischer Unterschiede des Protoplasmas nicht leugnet. Auch A. Meyer vertritt einen ähnlichen Standpunkt, indem er bei Grampositiven einen höheren „Trockenstoffgehalt des Cytoplasma“ als Grund ihres färberischen Verhaltens annimmt. Demgegenüber behaupten Nicolle und Alilaire auf Grund ihrer Analysen, grampositive Arten seien im allgemeinen wasserreicher, also substanzärmer, als die gramnegativen. Bei Annahme eines größeren Substanzreichtums würde sich die stärkere Farbstoffaufnahme durch erhöhte Bindungskraft erklären — hat ja Bechhold bei Färbungsver-

suchen von Eisessigkollodium mit Kristallviolett gefunden, daß, je größer der Kollodiumgehalt, desto stärker auch die Färbung. Andererseits aber bietet eine solche Anschauungsweise auch zu Bedenken Anlaß: kommt mehr Farbstoff herein, so verteilt er sich doch auf eine größere Substanzmenge — woher dann die größere Toxizität? Die Annahme von Nicolle und Alilaire könnte wieder vielleicht das leichtere Eindringen von Farbstoffen erklären, denn nach Knoevenagel sowie Eberstadt war die Geschwindigkeit der Adsorption von Methylenblau durch verschieden gequollene Acetylzellulose proportional dem Quellungszustand. Ich selbst habe vor 2 Jahren die durch morphologische und färbetechnische Beobachtungen gestützte Vermutung ausgesprochen, daß die verschiedene Permeabilität der beiden Bakteriengruppen auf Differenzen im chemischen bzw. physikalisch-chemischen Aufbau des Ektoplasma, d. h. der protoplasmischen Grenzschicht der Bakterien zurückzuführen ist. Ich möchte diese Vermutung heute dahin ergänzen, daß das Ektoplasma wahrscheinlich nicht prinzipiell vom restlichen Protoplasma sich unterscheidet, sondern nur vielleicht einen durch die besondere biologische Funktion bedingten besonderen Aggregatzustand besitzt, der die Eigenschaften des Protoplasmas nur in gewisser Richtung modifiziert zur Geltung bringt. Hat also das Protoplasma der grampositiven Arten größere Farbstoffkapazität, so wird sie hier in erhöhtem Grade wirksam sein, eine Vermutung, die der stark färbbare Ektoplasmasaum bei vorsichtiger „Vitalfärbung“ (A. Meyer, Grimme, Nakanishi, Verf.) wirklich bestätigt, und zwar besonders prägnant bei grampositiven Arten. Welche von den hier erörterten Hypothesen der weiteren Entwicklung unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete am besten dienen wird und welche sich mit den Tatsachen am besten vereinigen lassen, wage ich nicht zu entscheiden.

Und nun zur weiteren Frage: Welche Bedingungen muß ein Stoff erfüllen, um in der uns bekannten Weise Bakterien elektiv beeinflussen zu können? Der Erörterung dieser Frage, sowie den experimentellen Versuchen zu ihrer Lösung soll die folgende Mitteilung gewidmet sein. Hier mag nur ganz flüchtig die Richtigung angedeutet werden, in der sie sich bewegt und mit ein paar Worten einige besonders interessante Ergebnisse gestreift werden. Farbstoffe sind ja Farbstoffsalze und nähern sich in ihrem physikalisch-chemischen und chemischen Charakter manchen anderen anorganischen und organischen Salzen. Nun haben wir vorhin gehört, daß grampositive Bakterien nicht nur im weitesten Sinne farbstoffempfindlicher sind, sondern auch permeabler für Neutralsalze. Darin liegt natürlich die Aufforderung für uns, diese meist einfach konstituierten Stoffe in den Bereich der Untersuchungen zu ziehen, und zwar um so mehr, als wie schon in meiner Hämolysearbeit sowie in derjenigen mit M. Okolska über Desinfektion ausgesprochen wurde, die Hoffnung gerechtfertigt erscheint, an einfacheren Stoffen die verwickelten Probleme von Giftaufnahme und Giftwirkung leichter lösen zu können. Das reichhaltige, aber leider nur von praktischen Gesichtspunkten aus gesammelte Tatsachenmaterial über Salzwirkungen auf Bakterien, liefert für unsere Fragestellung fast kein Material und es erwies sich als nötig, die ganzen Untersuchungen systematisch von vorne anzufangen. Vor allem ist es im Sinne einer synthetischen Giftwirkungslehre nötig, sich über die Wirkungen einzelner Ionen klar zu werden, wozu nur einige vielversprechende Anfänge in den Arbeiten von Paul und Krönig, Paul, Birstein und Reuss, Kiss, sowie von Eisler gegeben sind. Es ergaben sich nun zum Teil recht interessante Resultate, von denen hier nur diejenigen,

die auf die Elektivität Bezug haben, erwähnt werden sollen. Es ergaben tatsächlich manche organische Salze, und zwar sowohl von antibakteriell wirksamen Basen als Säuren eine Elektivität, wie sie uns bei den Farbstoffen begegnet ist, nur meist weniger ausgesprochen und mit enger Differentialzone (Salze des p- und m-Phenylendiamins und seiner alkylierten Derivate, xanthogensaures Kalium, andeutungsweise Salze der Monochloressigsäure). Hierher ist wahrscheinlich auch die Wirkungsweise der Salze der Halogennaphthole zu beziehen, wie aus den Resultaten von Bechhold zu ersehen ist. So z. B. findet er für Di-Tribrom-naphtholnatrium:

	Entwicklungshemmung	Minimalabtötung
<i>M. pyogenes</i>	$\frac{1}{100000}$	$\frac{1}{80000}$
<i>Coryneb. diphth.</i>	$\frac{1}{100000}$	$\frac{1}{100000}$
<i>B. typhi</i>	$\frac{1}{8000}$	$\frac{1}{8000}$
<i>B. paratyphi</i>	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{4000}$
<i>B. coli</i>	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{16000}$

Von großem Interesse ist, daß die in ihrer Konstitution den Anilinfarbstoffen nahestehenden basischen organischen Arsenderivate, wie Arsenophenylglyzin und vor allem Altsalvarsan ganz dem Typus der Farbstoffelektivität folgen, wieder mit eingengter Differentialzone. Ihre hohe antibakterielle Aktivität kontrastiert stark mit der Unwirksamkeit der sauren organischen Arsenderivate: Atoxyl und Arsazetin, eine Beobachtung, die weiter verfolgt werden soll. Ein besonderes Interesse beanspruchen aber diese Salvarsanversuche deshalb, weil auf diese Weise der von Neufeld und Schiemann jüngst hervorgehobene Parallelismus zwischen Desinfektionswirkung in vitro und chemotherapeutischer Beeinflussung bakterieller Infektionen eine breitere Basis und Erklärung findet. Diejenigen Infektionen, über deren günstige Beeinflussung bis jetzt berichtet wurde, werden von grampositiven Erregern hervorgerufen. Den Spirochäten kommt wahrscheinlich angesichts ihrer sehr großen Empfindlichkeit trotz ihrer Gramnegativität eine Ausnahmstellung zu, die ja schon beim Choleravibrio angedeutet ist. Versuche mit gramnegativen Infektionen (Hühnercholera, Friedländer, Rhinosklerom) waren, soweit mir bekannt, bis jetzt erfolglos. Demgegenüber wird der Milzbrandbacillus, bei dem die besten Resultate erzielt wurden, noch bei $\frac{1}{300000}$ — $\frac{1}{1000000}$ gehemmt. Auch bei anorganischen Salzen konnte eine ähnliche elektive Beeinflussung festgestellt werden — es scheinen hier vor allem Zn-, Cd-, Cu-, Co-, möglicherweise auch Ca- und Ba-Ionen in Betracht zu kommen. Erwähnenswert scheint mir, daß die Angaben von Koch über Wismuthnitrat und Bismon sowie von Laschtschenko über Hühnereiweiß auch eine derartige Elektivität zu verraten scheinen.

Auf der anderen Seite haben die Versuche eine Anzahl von Körpern finden lassen, die im Gegensatz zum Farbstofftypus die gramnegativen Bakterien stark beeinflussen, viel weniger die grampositiven. Diesen Wirkungstypus, den wir bis auf weiteres den „inversen“ nennen wollen, zeigen Alkalisalze der Pikrinsäure, die Jodide, Rhodanide, Perchlorate, Nitrate, Chlorate der Alkalien. Diese letzteren Befunde sind von großem Interesse, weil die betreffenden Ione alle an einem Ende der Anionenreihe zu stehen kommen, wie sie sich beim Studium mancher chemischer und biochemischer Vorgänge ergeben hat. In der weiteren Verfolgung dieser Probleme wird sich vielleicht als heuristische Hypothese die Auffassung verwenden lassen, die mit dem bis jetzt erhaltenen Material ungefähr übereinstimmt, daß eiweißfällende Ionen die grampositiven, eiweiß- quellende die gramnegativen Arten besonders stark beeinflussen.

Praktische Nutzenwendungen.

Waren die bisherigen Erörterungen von rein theoretischen Gesichtspunkten ausgegangen, so möchte ich nun zum Schluß auf einige praktische Anwendungsmöglichkeiten hinweisen, die sich daraus ergeben. Dieselben liegen erstens auf dem Gebiete der Differentialdiagnose, indem einfache Färbungsmethoden („Vitalfärbung“ mit stark verdünnten basischen Farbstoffen, Cyanochemie) uns eine schnelle ungefähre Orientierung über die Zugehörigkeit einer Bakterienart liefern können. Auch ein leicht ausführbarer Züchtungsversuch auf Agar mit entsprechender Menge eines basischen oder sauren Farbstoffs wird dies gegebenenfalls leisten können (z. B. Fuchsin $1/1000$ — $1/20000$, Kristallviolett $1/10000$ — $1/100000$, Methylenblau $1/1000$ — $1/3000$, Cyanosin $1/300$, Aurantia $1/6000$).

Zweitens können die hier gewonnenen Erfahrungen mit Vorteil zur Lösung von Fragen der Elektivzüchtung herangezogen werden. Das ist ja übrigens in beschränktem Maße bereits bei manchen dafür angegebenen Methoden zum Teil unbewußt geschehen. So begründen Drigalski und Conradi die Verwendung des Kristallvioletts zu ihrem Typhusnährboden mit seiner „elektiven Bakterizidie“, die eine große Zahl von Kokken- und Bakterienarten an ihrer Entwicklung verhindert. Die Alkalibildner aus stark fäulenden Stühlen, die das Kristallviolett nicht zu hemmen vermochte, waren wahrscheinlich *B. alcaligenes* oder Angehörige der *Pyocyanum-Fluorescens*-Gruppe. Natürlich ist die Hemmungswirkung des Kristallvioletts bei Anwesenheit von Nutrose und Milchsüßer geringer, als in gewöhnlichem Agar. Die Erfahrung, daß der Nährboden durch Luftkeime nur schwer besiedelt wird, ist darauf zurückzuführen, daß es meist wohl grampositive Arten sind (Kokken, Sarcinen, sporentragende Bacillen). Als unbeabsichtigte, aber vielleicht nicht unwichtige Nebenwirkung hat es Endo durch seinen Zusatz von reduziertem Fuchsin erzielt, indem dasselbe, wie ich habe feststellen können, zwar schwächer als nicht reduziertes, jedenfalls aber noch deutlich hemmend auf grampositive Arten wirkt. Derartig wirkende Zusätze können natürlich unter der großen Menge der wirksamen Farbstoffe vielfach ausfindig gemacht werden, sofern es sich nur um die Ausnutzung der allgemeinen Elektivität der Farbstoffwirkung handelt. Auch wird man daran denken können, gegebenenfalls Anreicherungsverfahren auf dieser Basis aufzubauen.

Heikler wird die Frage, wenn es sich nicht darum handelt, die eine Gruppe auszuschalten unter Vermeidung einer Schädigung der anderen, sondern wenn einzelne Bakterienarten gegen andere zu derselben Gruppe gehörige zu schützen oder elektiv zum Wachstum kommen zu lassen. Es sind ja wohl auch zwischen den einzelnen Arten derselben Gruppe Unterschiede in der Farbstoffempfindlichkeit vorhanden, die konstant, wenn auch nicht sehr groß sind. Leider aber handelt es sich in den praktisch wichtigen Fällen um solche Keimarten, die debiler sind als ihre nächsten Angehörigen und Konkurrenten (*B. typhi-coli*, *Corynebact. diphtheriae-pseudodiphth.*, *V. cholerae* — andere Gram-negative), so daß hier nur ganz spezielle Elektivitäten, und auch diese nur schwer, zu einem Erfolg verhelfen können. Das zeigt z. B. die Malachitgrünmethode von Loeffler und die von ihr abgezwigten mit Brillantgrün, Chinagrün u. dgl. Wenn man sich an der scharf gezogenen Grenze zwischen zwei wenig verschiedenen Widerstandsfähigkeiten bewegt, kann man leicht die Ausschaltung des Konkurrenten mit einer Schädigung des meist spärlich vorhandenen Schützlings bezahlen müssen.

Es ist endlich nicht ausgeschlossen, daß auch die im letzten Ab-

schnitt mitgeteilten Erfahrungen über Stoffe von einem „inversen Typus“ der Elektivität einer elektiven Züchtung grampositiver Keime werden dienstbar gemacht werden können.

Endlich drängt sich wohl jedem, der die zum Teil imposanten Hemmungswerte mancher Farbstoffe kennen lernt, der Gedanke auf, daß diese so wirksamen Stoffe vielleicht auch zu chemotherapeutischer Beeinflussung von Infektion sich eignen würden. Freilich wissen wir jetzt, wie weit der Weg vom großartigsten Erfolg in vitro bis zum bescheidensten Erfolg in vivo ist. Speziell den Farbstoffen kann einerseits ihre Affinität zu Eiweißkörpern, andererseits ihre mehr oder weniger leichte Reduzierbarkeit zu weniger wirksamen Leukoderivaten im Tierkörper verhängnisvoll werden. Aber auch diejenigen Stoffe, die sich bisher chemotherapeutisch glänzend oder gut bewährt haben, bilden ja eine kleine Auslese aus einer großen Menge durchgeprüfter anderer Substanzen, und so wäre auch hier bei ausgedehnten Versuchen möglicherweise ein Resultat doch zu erlangen. Die Mißerfolge, die Boer, Zeiss sowie Titze bei diesbezüglichen Versuchen geerntet haben, dürfen uns von der weiteren Verfolgung dieses Weges nicht abschrecken. Die positiven Heilerfolge, über die Gebb jüngst berichtet hat, scheinen mir dafür zu sprechen, daß der Hauptgedanke der jetzt in Vergessenheit geratenen Pyoktaninbehandlung von Stilling, die Anwendung von Farbstoffen bei lokalen Infektionen doch beachtenswert ist, da hier der Kontakt des Farbstoffs mit dem Infektionserreger leicht zu erreichen ist. Vorwiegend wird man sich dabei an empfindliche Infektionserreger halten, die auch unter erschwerten Bedingungen leicht abgetötet oder gehemmt werden.

Schlusssätze.

1) Ebenso wie im Cyanochinbild differenzieren sich grampositive und gramnegative Arten bei der Färbung mit verdünnten Bakterienfarbstoffen sowohl in lebensfeuchtem als auch in fixiertem Zustand, indem die ersten sich schneller und kräftiger anfärben als die letzteren.

2) Der Mechanismus der Gram-Färbung beruht darauf, daß grampositive Bakterien das Violett leichter aufnehmen (vielleicht auch das Jod) und die resultierende Jodverbindung stärker festhalten, als die wenig permeablen gramnegativen.

3) In den gewöhnlich zur Vitalfärbung gebräuchlichen, sehr stark verdünnten Farblösungen ist eine Vitalfärbung der Bakterien in kürzerer Zeit nicht zu erzielen; stark protrahierte Färbungen sind mit Rücksicht auf die Vitalität der Bakterien nicht angebracht.

4) Lebenskräftige Bakterien setzen der Färbung einen gewissen Widerstand entgegen (gramnegative einen stärkeren als grampositive). Jede länger andauernde, deutliche Färbung bedeutet eine Schädigung der Bakterienzelle, die allmählich zu ihrem Tode führt.

5) Es ist jedoch bei schwächer toxischen Farbstoffen ein Zwischenstadium möglich, in dem die Zelle durch die aufgenommene Farbstoffmenge genügend gefärbt ist, ohne in ihrer Vitalität stark gelitten zu haben. Auch elektive Granulafärbungen sind vielleicht intravital zu erzielen.

6) Eine sichere Entscheidung, ob eine Färbung vital erfolgt ist, ist in den meisten Fällen sehr schwierig.

7) Durch Schädigungen oder Absterben der Bakterienzelle wird ihr Färbungswiderstand aufgehoben — derselbe beruht vielleicht auf Reduktion des eindringenden Farbstoffes (zugleich auch teilweiser Entgiftung).

8) Auch auf farbstoffhaltigen Nährböden ist sichere „vitale Färbung“ kaum zu erhalten. Die Färbung der Bakterien nimmt progressiv mit dem Altern der Kultur und der damit verbundenen Degeneration zu (die durch den Farbstoffgehalt ev. noch begünstigt wird).

9) Alle untersuchten 49 basischen Farbstoffe wirken in verschiedenem Grade entwicklungshemmend auf Bakterien; von 41 Sulfosäurefarbstoffen sind nur 9 schwach wirksam, während alle anderen 25 Säurefarbstoffe sich als toxisch erweisen.

10) Es besteht kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Toxizität und Permeabilität der Farbstoffe einerseits und ihrer Farbstoffnuance, ihrer Lipidlöslichkeit, ihrem kolloidalen Charakter; dagegen scheint die Farbstärke und ausgesprochene Basizität oder Azidität von Einfluß zu sein.

11) An manchen Farbstoffen kann die auxotoxe Wirksamkeit eingeführter Alkyl- und Nitrogruppen und Halogene gezeigt werden.

12) Die Sulfogruppe wirkt auch wie sonst entgiftend, wahrscheinlich indem sie die Adsorptionsfähigkeit und dadurch die Permeabilität der Farbstoffe herabsetzt.

13) Die reversible Entwicklungshemmung durch Farbstoffe kann als Maßstab ihrer vitalen Permeabilität verwendet werden.

14) Fast ausnahmslos ist die Hemmungswirkung eine streng elektive, indem grampositive Bakterien im allgemeinen 3—10 000 stärker beeinflußt werden als gramnegative, was mit dem Verhalten der Färbbarkeit gut übereinstimmt.

15) Innerhalb der beiden Gruppen von Bakterien läßt sich eine ungefähr konstante Empfindlichkeitsskala aufstellen.

17) Einführung von antiseptisch wirksamen Metallen (Ag, Hg) in das Farbstoffmolekül kann selbst unter Steigerung der Hemmungswirkung die Elektivität herabsetzen oder aufheben.

17) Gonokokken, Meningokokken und *Microc. catarrhalis* verhalten sich trotz ihrer Gramnegativität in bezug auf Färbbarkeit und Farbstoffempfindlichkeit wie ihre Verwandten, die grampositiven Kokken.

18) Sporentragende Bacillen sind durch besondere Farbstoffempfindlichkeit ausgezeichnet.

19) Serumzusatz setzt bei manchen Farbstoffen den Hemmungseffekt herab, bei anderen nicht.

20) Auch in Abtötungsversuchen kann sich die Elektivität der Farbstoffwirkung durch stärkere Beeinflussung der Grampositiven manifestieren.

21) Ihrer Elektivität nach sind die Farbstoffe unter „halbspezifische Desinfektionsmittel“ einzureihen, da die Empfindlichkeitsskala der grampositiven und gramnegativen Bakterien gegenüber anderen Antisepticis eine ganz regellose, in manchen Fällen sogar eine inverse sein kann.

22) Die Ursache der Elektivität liegt zum Teil in der größeren

Permeabilität, zum Teil in dem größeren Speicherungsvermögen der grampositiven Arten für Farbstoffe.

23) Eine Reihe von anderen organischen und anorganischen Salzen zeigt zum Teil den Wirkungstypus der Farbstoffe (darunter Salvarsan), zum Teil einen inversen Typus.

24) Die beschriebene Elektivität der Farbstoffwirkung kann zur Differentialdiagnose und zur Elektivzüchtung mit Nutzen verwendet werden, vielleicht auch zu chemotherapeutischen Versuchen.

Zum Schlusse erfülle ich eine Herzenspflicht, indem ich meinem aufrichtig verehrten Chef, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. R. Pfeiffer, für das mir erwiesene Wohlwollen und das lebhafteste Interesse an meinen Arbeiten auch an dieser Stelle bestens danke.

Literatur.

- d'Abundo, zitiert bei Calandra.
 Babel, A., zitiert bei Kobert, R., Lehrb. d. Intoxikationen. 2. Aufl. p. 658.
 Babes, V., in Cornil u. Babes, Les bactéries. 2^e éd. Paris 1886. p. 72.
 Bechhold, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. p. 113—142.
 —, Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden (Steinkopff) 1912. p. 397—404.
 — u. Ehrlich, P., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 47. 1906. p. 173—199.
 Behring, E., Gesammelte Abhandlungen. Leipzig (Thieme) 1893. p. 194.
 —, Einführung in die Lehre von der Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Berlin (Hirschwald) 1912. p. 494—495.
 Birch-Hirschfeld, Arch. f. Hyg. Bd. 7. 1888. p. 341—353.
 Blachstein, diese Zeitschr. Abt. I. Bd. 23. 1898. p. 660.
 Bley, H., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. p. 206—221.
 Boer, O., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 479—491.
 Bokorny, Th., diese Zeitschr. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 237—239.
 —, ibid. Bd. 37. 1913. p. 168—267.
 Botazzi, F., Handb. der vergl. Physiologie v. Winterstein. Jena (Fischer) 1912. Bd. 1. p. 213—263.
 Brudny, V., diese Zeitschr. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 65—70.
 Buchner, H., diese Zeitschr. Bd. 7. 1890. p. 733—736.
 Bürgers, Schermann u. Schreiber, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1912. p. 119—134.
 Calandra, E., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 567—574.
 Certes, zitiert bei Beauchamp, L'année biolog. T. 11. 1906. p. XVI—XLII.
 Czapek, E., Ueber eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena (Fischer) 1911.
 Dietrich u. Liebermeister, diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 32. p. 858.
 v. Drigalski u. Conradi, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. p. 289.
 Eberstadt, zitiert bei Bechhold, p. 401.
 Ehrlich, P., v. Leyden-Festschr. Bd. 1. p. 1—35.
 Eisenberg, Ph., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 465—492.
 —, ibid. Bd. 53. 1910. p. 481—485.
 —, ibid. Bd. 56. 1910. p. 193—201.
 —, ibid. p. 183—186.
 —, ibid. Abt. I. Ref. Bd. 54. 1912. Beih. p. 145—153.
 — u. Okolska, M., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 312—346.
 v. Eisler, M., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 546—564.
 Endo, diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1909. p. 109.
 Engels, W., diese Zeitschr. Bd. 21. p. 81.
 Fischel, Artikel „Vitale Färbung“ in Enzykl. d. mikroskop. Technik. 2. Aufl. Bd. 2. p. 589—601.
 Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena (Fischer) 1903. p. 20.
 —, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena (Fischer) 1899. p. 115—117, p. 97.
 Fischer, W. H., Das Oedem. Dresden (Steinkopff) 1911.
 Fraenkel, S., Arzneimittelsynthese. 2. Aufl. Berlin (Springer) 1906. p. 48, 92—100.
 Freundlich, H., Kapillarchemie. Leipzig 1909. p. 159—160.

- Galeotti, Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. 11. 1894. p. 172—207.
 Gamaleia, Elemente d. allgem. Bakteriologie.
 Gasser, J., Arch. de méd. expér. et d'anat. path. T. 2. 1890. p. 750—758.
 Gebb, H., Ber. üb. d. XXXVIII. Vers. d. Ophthalmol. Ges. Heidelberg 1912. Wiesbaden (Bergmann). p. 229—237.
 —, München. med. Wochenschr. 1913. No. 18.
 Goldmann, E., Bruns Beitr. z. klin. Chir. 1909, 1911, 1912.
 —, Centralbl. f. Chir. 1912. H. 1.
 Graeflin, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 10. p. 193.
 Grimme, A., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 32.
 Hankin u. Leumann, diese Zeitschr. Bd. 22. 1897. p. 438.
 Heidenhain, M., Plasma und Zelle. Abt. I. Jena (Fischer) 1907. p. 452—472.
 Höber, R. u. Kempner, F., Biochem. Zeitschr. Bd. 11. 1908. p. 105—120.
 — u. Chassin, S., Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Koll. Bd. 3. 1908. H. 2.
 —, Biochem. Zeitschr. Bd. 20. 1909. p. 56—99.
 —, Physikal. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe. 3. Aufl. Leipzig 1911.
 — u. Nast, O., Biochem. Zeitschr. Bd. 50. 1913. p. 418—436.
 Jacobsen, diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 208.
 Jaenicke, Fortschr. d. Med. Bd. 8. 1890. p. 460—468.
 Kantorowicz, München. med. Wochenschr. 1909. No. 18. p. 897—900.
 Knoevenagel, zitiert bei Bechhold, p. 401.
 Kiss, J., Das periodische System der Elemente und die Giftwirkung. Wien 1909.
 Koch, E., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 640—645.
 Kramer, G., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 394—422.
 Kriegler, S. G., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 481—490.
 Krönig u. Paul, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. p. 1—112.
 Krumwiede, Ch. u. Pratt, J. S., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 562—566.
 Kruse, W., München. med. Wochenschr. 1910. No. 13.
 —, Allgem. Mikrobiologie. Leipzig (Vogel) 1910. p. 40—44.
 Küster, E., Biolog. Centralbl. Bd. 18. 1898. p. 305—311.
 —, Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. 50. 1911. p. 261—288.
 Laschtschenko, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. p. 419—427.
 Laubenheimer, K., Die Phenole. Berlin-Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1909.
 Lee u. Mayer, Grundzüge der mikroskop. Technik. 3. Aufl. Berlin 1907. p. 140—143.
 Lepeschkin, W., Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 29. 1911. p. 181, 247, 349.
 Loeffler, F., Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 30.
 Loewe, S., Biochem. Zeitschr. Bd. 42. 1912. p. 150—218.
 —, Kolloidzeitschr. Bd. 11. 1912. p. 179—183.
 Maassen, A., Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 21. 1904. p. 385—402.
 Malvoz, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 11. 1897. p. 582—590.
 Marzinsky, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1913. p. 191—193.
 Matruchot, Compt. Rend. Ac. Sc. Paris. T. 127. 1898.
 Matzschita, T., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 495—510.
 Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena (Fischer) 1912.
 Metschnikoff, E., Lubarsch-Ostertags Ergebn. Abt. I. 1896.
 Moore u. Roaf, zitiert bei Botazzi.
 Nathanson, A., Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. 39. 1909. p. 607—644.
 Neufeld u. Schiemann, diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. Beiheft. p. 183—193.
 Nicolle, M. et Alilaire, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 23. 1909. p. 556.
 — et Mesnil, F., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 20. 1906. No. 6, 7.
 Nitsche, diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 575—577.
 Ottolenghi, D., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 552.
 Overton, E., Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. 34. 1900. p. 669—701.
 —, Studien über die Narkose. Jena (Fischer) 1901.
 Pascucci, Hofmeisters Beitr. Bd. 6. 1905. p. 552.
 Paul, Birstein u. Reuss, Biochem. Zeitschr. Bd. 25. 1910.
 Péju et Rajat, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 62. 1907. p. 954.
 Pelet-Jolivet, L., Die Theorie des Färbeprozesses. Dresden (Steinkopff) 1910.
 Penfold, W., Proc. of the Roy. Soc. Ser. B. Vol. 85. 1912. p. 415—417.
 —, Proc. of the Roy. Soc. of Med. 1911; Journ. of Hyg. Vol. 11. 1912. p. 487—502.
 Plato, J., Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 56. 1900. p. 868—917.
 — u. Guth, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38. 1901. p. 319—331.
 Pohl, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 28. 1891. p. 239.
 Proca, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 66. 1909.
 Przesmycki, Biolog. Centralbl. Bd. 14. 1894. p. 620—626.

- Regenstein, [Diss.] Breslau 1912.
 Reitz, A., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. p. 270—285, 374—384, 451—466.
 Revis, C., diese Zeitschr. Abt. II. Bd. 31. 1911. p. 1—4.
 Robertson Brailsford, T., zitiert bei Botazzi.
 Rosenstiehl, Compt. Rend. Ac. Sc. Paris. T. 132. 1902.
 Rozsahegyi, diese Zeitschr. Bd. 2. 1887. p. 418.
 Roos, O., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 15. 1912. p. 487—505.
 Ruhland, W., Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. 46. 1909. p. 1—54.
 —, ibid. Bd. 51. 1912. p. 376—434.
 Růžicka, V., Arch. f. Hyg. Bd. 47. p. 337—389.
 Sangiorgi, G., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 94—96.
 Schultze, W. H., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1910. p. 542.
 Schultz, G. u. Julius, P., Tabellarische Uebersicht d. künstl. organ. Farbstoffe. 4. Aufl. Berlin 1902.
 Schulemann, W., Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 79. 1912. p. 223—246.
 —, Arch. d. Pharm. Bd. 250. 1912. p. 252—279.
 Seiffert, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. 1912. p. 561—568.
 Shiga, K., Zeitschr. f. Immunität. Orig. Bd. 18. 1913. p. 65—74.
 Signorelli, E., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. p. 469—480.
 Spiro, E., Ueber physikalische und physiologische Selektion. Straßburg 1897.
 Steinschneider, E., Hyg. Rundsch. Bd. 23. 1913. p. 9—11.
 Stilling, Anilinfarbstoffe als Antiseptika. Straßburg (Trübner) 1890.
 —, Ueber die Anwendung der Anilinfarbstoffe. (Berlin. klin. Wochenschr. 1890. p. 531—533.)
 Teague u. Buxton, Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. 60. 1907. p. 469—488.
 Titze, zitiert bei Zeiss.
 Traube, Ueber Oberflächenspannung und Flockung kolloider Systeme. (Kolloidchem. Beihefte. Bd. 3. 1912. p. 237—336.)
 Unna, P. G. u. Golodetz, L., Die Bedeutung des Sauerstoffs in der Färberei. (Derm. Stud. Bd. 22. 1912. p. 1—29.)
 Vahle, diese Zeitschr. Abt. II. Ref. Bd. 25. 1909. p. 178—260.
 Vay, F., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 193.
 Vernon, H. M., Biochem. Zeitschr. Bd. 51. 1913. p. 1—25.
 Vogt, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 13. p. 117, 226.
 de Waele, H., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 40.
 Wolff, F., Zeitschr. f. induct. Abstamm. u. Vererb.-Lehre. Bd. 2. 1909. p. 90—132.
 Zeiss, H., Arch. f. Hyg. Bd. 79. 1913. p. 141—167.

Nachdruck verboten.

Ueber einen säurefeste Substanz bildenden Bacillus der Subtilis-Gruppe.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag
(Vorstand Prof. Bail) und aus der Dermatologischen Klinik (Vorstand
Prof. Kreibich).]

Von Prof. Dr. Ludwig Waelsch in Prag.

Bei der bakteriologischen Untersuchung von Schuppen eines Ekzema marginatum gingen in den Agarplatten zahlreiche, gelblich-weiße, sich rasch vergrößernde Kolonien auf, welche unter dem Mikroskop ein dunkleres, gekörntes Zentrum und eine hellere Randzone erkennen ließen, die aus einem dichten Gewirr zopfartig verflechtener Fäden bestand.

Aus diesen Kolonien hergestellte mikroskopische Präparate ergaben, daß es sich um einen, in die Subtilis-Gruppe gehörigen Bacillus handelte, der aber, wie die weitere genaue Untersuchung zeigte, sich durch gewisse Eigentümlichkeiten von den ubiquitären Subtilis-Bacillen unterschied.

Auf Agar wuchs er ungemein rasch, besonders üppig auf Traubenzuckeragar, sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur, und bildete

schon nach 24 Stunden einen dichten, schmutzig-gelben Belag, der sich in älteren Kulturen leicht, wie ein dicker Brei, vom Nährboden abschaben ließ. Bei weiterem Wachstum trat in den verschiedenen Agarnährböden, besonders deutlich in Traubenzuckeragar, eine eigentümliche, braune Verfärbung auf und der Belag nahm, hauptsächlich in seinen unteren, dem Nährboden zugewendeten Schichten eine rötliche Farbe an. Auf Maltosenährböden hatte die Auflagerung von vornherein einen rosa-roten Stich, der sich bei älteren Kulturen allmählich in ein schmutziges Rot umwandelte.

Gelatine wurde rasch trichterförmig verflüssigt. In Bouillon entwickelte sich schon nach 24 Stunden ein Oberflächenhäutchen, das sich bei weiterem Wachstum zu einer stärkeren Membran verdichtete; deutlicher Niveaurand; der Nährboden selbst diffus getrübt, mit schleimigem, bröckligem Bodensatz, der sich beim Schütteln klumpig erhebt und sich nur schwer verteilen läßt.

Auf Kartoffel entwickelte sich eine gelblich-weiße Auflagerung von breiiger Konsistenz, auf Zuckerrübe war das Wachstum makroskopisch auffallend wenig sichtbar, unter eigenartiger, schiefergrauer Verfärbung des Nährbodens.

Nach diesen weiteren Wachstumscharakteren mußte der mit Eigenbewegung ausgestattete *Bacillus* als ein *Subtilis* angesprochen werden, und es hätte eine weitere Beschäftigung mit ihm wohl nicht gelohnt, wenn nicht die mikroskopische Untersuchung der aus den Reinkulturen hergestellten Präparate besondere Eigentümlichkeiten ergeben hätte.

Die von 24-stündigen Zuckeragarkulturen stammenden, mit Loefflerschem Methylenblau gefärbten Präparate zeigten die für *Subtilis* charakteristischen langen Fäden, deren Stäbchenelemente, 3—4mal so lang als breit, Sporen enthielten. Dazwischen fanden sich auch freie Sporen in wechselnder Menge und außerdem runde, scharf konturierte, von einer ganz dünnen, blau gefärbten Hülle umgebene, stark lichtbrechende Kügelchen und auch größere, tropfenartige Gebilde, die den blauen Farbstoff nicht angenommen hatten und eben durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen auffielen. Ähnliche kleine Gebilde konnte man auch in den Bacillen selbst, Sporen sehr ähnlich, ferner auch zwischen den endogenen Sporen und der Bacillenhülle selbst nachweisen; sie ließen sich dort häufig von den Sporen nicht mit Sicherheit unterscheiden.

Die Färbung nach Ziehl-Neelsen ergab nun, daß diese letzteren Gebilde säurebeständig waren, sich tiefrot färbten, während die in den Bacillen gelegenen und auch die freien Sporen nur einen ganz schwachen rosa Farbenton annahmen. Es zeigte sich dann ferner, daß nicht alles, was im Methylenblaupräparat als Spore imponierte, auch eine solche war, sondern, daß die meisten Fäden kleine Klümpchen jener säurefesten Substanz enthielten, die sich dann in großer Menge und in der verschiedensten Größe, von feinem Staub bis zu tropfenartigen und scholligen Gebilden auch außerhalb der Bacillen fand. Hie und da konnte man auch den Austritt der säurefesten Klümpchen aus dem Bacillenleib beobachten.

Das weitere Wachstum der Kulturen auf Zuckeragar ergab nun, daß diese säurefesten Gebilde an Menge bedeutend zunahmen, die Bacillenenden waren dann auch manchmal zu keulenförmigen, gegliederten Anschwellungen verdickt, die von dieser Substanz erfüllt waren. Nach 10 Tagen fand sie sich massenhaft im Gesichtsfeld und nach ungefähr 20 Tagen verdeckten die dicht aneinander gelagerten Kugeln, Tropfen und Schollen die zwischen ihnen befindlichen Bacillen und Sporen, die erst nach Extraktion der säurefesten Substanz wieder sichtbar wurden.

Diese Substanz, die sich nach Ziehl-Neelsen rot färbte, aber mit Osmium sich nicht schwärzte (durch die fehlende Osmierbarkeit unterscheidet sie sich von der Wachssubstanz des Tuberkelbacillus), und auch nicht Sudanfärbung annahm, sich mit Scharlachrot nur wenig intensiv färbte, entwickelte sich nur auf traubenzuckerhaltigen Nährböden in der geschilderten Menge. Dabei hatte der Zuckergehalt des Nährbodens auf die Menge der Entwicklung keinen wesentlichen Einfluß, so zwar, daß auf $\frac{1}{2}$ -proz., 1-proz., 2-proz. Traubenzuckeragar kein wesentlicher Unterschied sich konstatieren ließ und sie auch z. B. auf 4-proz. Maltoseagar zwar reichlich, aber nicht reichlicher vorhanden war, als auf $\frac{1}{2}$ -proz. Traubenzuckeragar. Dagegen war auf 1-proz. Rohrzuckeragar die Menge dieser Substanz eine wesentlich geringere; auf Kartoffeln war sie ebenfalls gering, indem die Körnchen klein und gering an Zahl waren; auf Zuckerrübe fand sie sich reichlicher, es reichte aber die Größe und Zahl der Körner bei weitem nicht heran an die auf Traubenzuckeragar.

In Glyzerinagarkulturen trat die Substanz erst spät und da in sehr geringer Menge auf, dagegen fanden sich die Fäden erfüllt von Sporen, die auch in großer Menge freilagen.

In Bouillonkulturen konnte ich die Bildung dieser Körner in geringer Menge beobachten, auch in Traubenzuckerbouillon.

Es war also dieser Subtilis-Bacillus, der sich für Kaninchen und Meerschweinchen nicht pathogen erwies (seine subkutane Injektion führte nur zur Bildung derber Infiltrate, die sich allmählich resorbierten), ausgezeichnet durch die Bildung einer wachsartigen, säurefesten Substanz, die besonders auf Traubenzuckernährböden rasch und in großen Mengen produziert wurde.

Die Extraktion dieser Substanz gelang, wenn auch nicht vollständig, so doch zum großen Teile mit Aceton, so daß 2-proz. Traubenzuckeragarkulturen, 7—10 Tage in Kolle-Schalen gewachsen, große Mengen derselben lieferten. Nach Verdunstung des Acetons blieb ein fettiger, mit Wasser sich nicht benetzender, goldgelber bis gelbbrauner Rückstand zurück mit eigenartigem Geruch, der an den des Fleischextraktes erinnerte. Dieser Rückstand wurde mit physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und so eine trübe Emulsion hergestellt, deren Trübung in dünner Schicht aus lauter feinsten, staubartigen Körnchen bestand, die ebenfalls säurefest waren.

Es wurde nun versucht, festzustellen, ob diese säurefeste Substanz imstande sei, als Antigen wirkend, beim Kaninchen Antikörper zu erzeugen und ferner, ob es auch gelinge, mit den lebenden Bacillen Antikörperbildung hervorzurufen. Zu den ersten Immunisierungsversuchen wurde die Emulsion verwendet, die durch Verreibung des Acetonextraktes mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt worden war. Um dem Einwand zu begegnen, daß diese Emulsion nicht auch Sporen enthalte, wurde bei den späteren Versuchen der Acetonextrakt durch Berkefeld-Filter filtriert und der Rückstand in der Schale, nach Verdunstung des Acetons, auf Sporen mikroskopisch untersucht. Er erwies sich stets als frei von diesen.

Sowohl mit der Aufschwemmung von Glyzerinagarkulturen (eine Oese auf 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung), welche letztere gewählt wurden, um möglichst wenig säurefeste Substanz mitzubekommen, als auch mit der Emulsion des Acetonextraktes von Zuckeragarkulturen wurden Kaninchen intravenös vorbehandelt, und zwar erhielten diese Tiere 4mal hintereinander in Zwischenräumen von je 5 Tagen je 2 ccm der Bacillenaufschwemmung, bzw. der Emulsion. 10 Tage nach der

letzten Injektion wurde durch Venaepunctio Blut entnommen und damit die Immunitätsreaktionen angestellt.

Ueber das Ergebnis dieser Versuche sei in folgendem berichtet:

Agglutinationsversuche.

I.

Mit Emulsion aus Glycerinagarkulturen.

Bacillenemulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	+++
1 „	0,01	+
1 „	0,005	±

Bacillenemulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	+++
1 „	0,01	++
1 „	0,005	+

Bacillenemulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	+++
1 „	0,01	+++
1 „	0,005	+++

Kontrolle 0.

II.

Bei diesem Versuch wurde die Bacillenemulsion aus getrockneten Kulturen nach Acetonextraktion derselben hergestellt.

Bacillenemulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	+++
1 „	0,01	++
1 „	0,005	0

Bacillenemulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+
1 „	0,05	0
1 „	0,01	0
1 „	0,005	0

Bacillenemulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	+++
1 „	0,01	++
1 „	0,005	++

Bacillenemulsion	Serum IV (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	0
1 „	0,05	0
1 „	0,01	0
1 „	0,005	0

Bacillenemulsion	Serum V (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	θ
1 "	0,05	θ
1 "	0,01	θ
1 "	0,005	θ

Bacillenemulsion	Serum VI (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	+
1 "	0,05	+
1 "	0,01	θ
1 "	0,005	θ

Kontrolle θ.

III.

Mit Emulsion aus Zuckeragarkulturen.

Bacillenemulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 "	0,05	+++
1 "	0,01	+++
1 "	0,005	+++

Bacillenemulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	+
1 "	0,05	+
1 "	0,01	+
1 "	0,005	+

Bacillenemulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 "	0,05	+++
1 "	0,01	+++
1 "	0,005	+++

Bacillenemulsion	Serum IV (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 "	0,05	θ
1 "	0,01	θ
1 "	0,005	θ

Bacillenemulsion	Serum V (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	θ
1 "	0,05	θ
1 "	0,01	θ
1 "	0,005	θ

Bacillenemulsion	Serum VI (Normaltier)	Resultat
1 ccm	0,1	++
1 "	0,05	θ
1 "	0,01	θ
1 "	0,005	θ

Kontrolle θ.

Es wurde nun versucht, die Agglutininbildung durch neuerliche Injektion der zu den ersten Versuchen verwendeten Kaninchen zu steigern, indem die Tiere neuerlich in derselben Weise wie vorher behandelt wurden. Zu diesen Injektionen wurde die Emulsion aus filtriertem Acetonextrakt hergestellt.

IV.

Bacillenemulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	0
1 „	0,05	0
1 „	0,01	0
1 „	0,005	0

Bacillenemulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
1 ccm	0,1	0
1 „	0,05	0
1 „	0,01	0
1 „	0,005	0

Bacillenemulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
1 ccm	0,1	+++
1 „	0,05	++
1 „	0,01	+
1 „	0,005	0

Kontrolle 0.

Der Agglutinationsversuch mit den Seris dreier normaler Kaninchen war vollkommen negativ.

Das Serum der beiden Bacillentiere ergab also, wie die Tabellen zeigen, einwandfrei Agglutination. Von den 4 Extrakttieren erzeugten 3 keine Agglutinine. Eines von diesen hatte zwar eine ziemlich starke Agglutinationskraft. Wenn man aber bedenkt, daß diese Tiere 4 Injektionen mit einer nicht sicher sporenfreien Emulsion bekommen hatten und außerdem, daß trotz der weiteren Injektionen mit sicher sporenfreier Emulsion der Titer des Serum eine Abnahme erfuhr, so kann man auch der Agglutinationskraft dieses Serums keine Bedeutung beimessen, weil man immerhin annehmen kann, daß die Abnahme dadurch erfolgt ist, daß eben durch längere Zeit keine Antigenzufuhr stattgefunden hat.

Komplementbindungsversuche.

Die Komplementbindungsversuche wurden sowohl mit Bacillenemulsion, als auch mit der Acetonextraktemulsion (durch Berkefeld-Filter filtriert) als Antigen vorgenommen. Durch einen Vorversuch wurde jedesmal die gerade noch lösende Antigen- und Komplementmenge ermittelt. Bei allen Versuchen erwies sich 0,05 Komplement als ausreichend.

I.

a) Komplementbindung mit Acetonextrakt von Zuckeragarkulturen als Antigen.

Extrakt	Serum I (Extrakttier)	Resultat
0,5 ccm	0,2	} K. L.
0,5 „	0,1	
0,5 „	0,05	
0,5 „	0,01	

Extrakt	Serum II (Extrakttier)	Resultat
0,5 ccm	0,2	} K. L.
0,5 „	0,1	
0,5 „	0,05	
0,5 „	0,01	
Extrakt	Serum III (Bacillentier)	Resultat
0,5 ccm	0,2	θ
0,5 „	0,1	θ
0,5 „	0,05	θ
0,5 „	0,01	m.

Alle Kontrollen gelöst.

b) Komplementbindungsversuch mit Bacillenemulsion von Glycerinagar als Antigen.

Emulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
0,2 ccm	0,2	} K. L.
0,2 „	0,1	
0,2 „	0,05	
0,2 „	0,01	
Emulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
0,2 ccm	0,2	} K. L.
0,2 „	0,1	
0,2 „	0,05	
0,2 „	0,01	
Emulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
0,2 ccm	0,2	θ
0,2 „	0,1	θ
0,2 „	0,05	m.
0,2 „	0,01	K. L.

Alle Kontrollen gelöst.

II.

Versuchsreihe mit anderen, frisch immunisierten Kaninchen.

a) Mit Acetonextrakt als Antigen.

Extrakt	Serum I (Extrakttier)	Resultat
0,25 ccm	0,1	} K. L.
0,25 „	0,05	
0,25 „	0,01	
Extrakt	Serum II (Extrakttier)	Resultat
0,25 ccm	0,1	} K. L.
0,25 „	0,05	
0,25 „	0,01	
Extrakt	Serum III (Bacillentier)	Resultat
0,25 ccm	0,1	θ
0,25 „	0,05	} K. L.
0,25 „	0,01	

Alle Kontrollen gelöst. Ebenso komplette Lösung mit den Seris dreier normaler Kaninchen.

b) Mit Bacillenemulsion als Antigen.

Emulsion	Serum I (Extrakttier)	Resultat
0,3 ccm	0,2	} K. L.
0,3 „	0,1	
0,3 „	0,05	
Emulsion	Serum II (Extrakttier)	Resultat
0,3 ccm	0,2	} K. L.
0,3 „	0,1	
0,3 „	0,05	
Emulsion	Serum III (Bacillentier)	Resultat
0,3 ccm	0,2	θ
0,3 „	0,1	θ
0,3 „	0,05	schwache Hemmung

Alle Kontrollen gelöst. Auch komplette Lösung mit den Seris dreier normaler Kaninchen.

Aus diesen Komplementbindungsversuchen ergibt sich folgendes:

In Uebereinstimmung mit dem wahrscheinlich negativen Ausfall der Agglutinationsversuche bei den mit Extrakt vorbehandelten Tieren zeigen auch hier die Extrakttiere ein vollständig negatives Verhalten hinsichtlich der Komplementbindung. Dagegen erweisen sich die Sera der Bacillentiere auch betreffend Komplementbindung positiv. Es muß aber hier in Betracht gezogen werden, daß die Komplementbindung deutlich schwächer ist als die Agglutination, was ja nicht nur nach Vorbehandlung mit diesem Mikroorganismus, sondern ganz allgemein der Fall ist. Die Komplementbindung ist jedoch nicht nur gegenüber dem wässrigen Bacillenantigen vorhanden, sondern auch, wenn auch etwas schwächer, gegenüber dem Acetonextrakt. Dies ist sicherlich im Lichte der neueren Forschung von Interesse, da bekanntlich den Lipoiden Antigennatur zugeschrieben wurde (Bang und Forssman, Much).

Durch die genauere Analyse dieser Erscheinungen wurden aber diesbezüglich doch Bedenken wachgerufen. Man wendete nämlich ein, daß in jenen Fällen, wo eine Antikörpererzeugung durch Lipoider erfolgt sein soll, diese letzteren nicht rein bzw. nicht frei von Eiweißstoffen gewesen sein sollen, eine Anschauung, die besonders von Landsteiner vertreten wird. Allerdings wurde durch die jüngsten Experimente Muchs diesem Einwand begegnet.

Meine Versuche würden nun in ihren jetzigen Ergebnissen einen Beitrag für die Richtigkeit der Anschauungen Landsteiners bilden, denn der sicher einwandfrei hergestellte Acetonextrakt erwies sich als ungeeignet zur Antikörpererzeugung.

Eine andere Frage ist jedoch die, ob spezifische Antikörper, die mit echten Antigenen hergestellt sind, mit Lipoiden einwandfrei spezifisch reagieren können. Wäre dies der Fall, so würde dies zwar gegen die Vorstellung der Ehrlichschen Theorie, daß nämlich die Antigengruppen gleichbedeutend sind mit den haptophoren, sprechen, wäre aber andererseits für die Auffassung vieler Immunitätsfragen von Bedeutung.

Bei der Wassermannschen Reaktion wurde zum erstenmal mit Sicherheit festgestellt, daß ein Aufeinanderwirken zwischen Lipoiden und Serumstoffen im Sinne einer Immunitätsreaktion statthat, und gerade aus

diesem Grunde hat man die Wassermannsche Reaktion nicht als eine Antikörperreaktion bezeichnet (Porges, Sachs und Rondoni). Nun ist aber durch die neueren Arbeiten, besonders durch Kurt Meyer, gezeigt worden, daß Lipide, welche keine Antikörper erzeugen, sich doch geeignet erweisen, mit echten Antikörpern in spezifischer Weise in Reaktion zu treten. Es gelang ihm, mit dem wässerigen Extrakt von Bandwürmern Antikörper zu erzeugen, dagegen nicht mit dem Lipoidextrakt aus diesen. Es zeigte sich aber, daß die mit dem wässerigen Extrakt erzielten Antikörper in spezifischer Weise auch mit den reinen Lipiden Komplementbindung gaben. Dies ist ein vollkommenes Analogon zu meinen Versuchen. Auch hier wirkten die mit der Bacillenemulsion hergestellten Antikörper mit dem reinen Acetonextrakt komplementbindend. Damit wäre also der Beweis erbracht, daß die sogenannte haptophore Gruppe der Antigene nicht gleichbedeutend zu sein braucht mit der, welche Antikörper erzeugt. Speziell in dieser Hinsicht sind bereits eine ganze Reihe von Feststellungen bekannt, auf die ich jedoch jetzt nicht näher eingehen will, da ich beabsichtige, die Versuche in der gekennzeichneten Richtung fortzusetzen.

Literatur.

- Meyer, Kurt, Untersuchungen über antigene Eigenschaften von Lipiden. III. Ueber Immunisierungsversuche mit Bandwurmlipiden. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11. p. 221.)
 —, Ueber Immunisierungsversuche mit Tuberkelbacillen, Tuberkelbacilllipiden und lipoidfreie Tuberkelbacillen. Ueber antigene Eigenschaften von Lipiden. VI. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 15. p. 275.)
 Much, H., Neue immunobiologische und klinische Tuberkulosestudien mit Berücksichtigung der Lepra. (Münch. med. Wochenschr. 1912. p. 685.)

Nachdruck verboten

Zur Frage der Komplementbindung bei Tuberkulose.

[Aus der Epizootologischen Abteilung des K. Institutes für Experimentalmedizin (Leiter A. A. Wladimiroff) und der Chirurgischen Klinik der K. militärmedizinischen Akademie (Leiter N. A. Welliaminoff).]

Von K. K. Wwedensky.

Die Frage von der Anwendung der Komplementbindungsreaktion zur Diagnose der Tuberkulose hat noch keine endgültige Lösung erfahren. Die in der Literatur vorhandenen Angaben (Wolff-Eisner, Bruck, Lüdke, Cohn, Weil, Strauss und viele andere) zeigen, daß die entsprechenden Untersuchungen zu widersprechenden Ergebnissen geführt haben.

In dem Bestreben, diese Frage, wenn auch nur zu einem geringen Teil, von der klinischen und experimentellen Seite zu beleuchten, habe ich eine Reihe von Bindungsversuchen bei natürlicher und künstlicher Tuberkuloseinfektion ausgeführt. Obwohl meine Experimente noch nicht zum Abschluß gelangt sind, so verfüge ich doch bereits über ein Beobachtungsmaterial, welches ich, wenn auch nur summarisch, mitteilen zu müssen glaube.

Im allgemeinen habe ich mich an die Technik gehalten, wie sie von Wassermann, Neisser und Bruck ausgearbeitet worden ist. Im

hämolytischen System dienten: als Komplement — frisches Meer-schweinchenserum, als Ambozeptor — Hammelerythrocyten lösendes Kaninchenserum, als Antigen — eine 2,5-proz. Aufschwemmung von Hammelerythrocyten. Die zu prüfenden Sera wurden in Dosen von 0,2 und 0,1, einige auch zu 0,05 untersucht. Das Resultat wurde stets nur auf Grund einer mindestens zweimaligen Untersuchung ein und desselben Serums verzeichnet. In jedem Einzelversuche wurden mehrere Tbc.-Antigene gleichzeitig verwendet, wie dies Wolff-Eisner und Ascher dringend anraten. Ich habe sogar nicht nur mehrere Antigene desselben Typus, sondern immer verschiedener Typen (humanus, bovinus, avium und piscium) benutzt.

Im Beginn meiner Arbeit habe ich die mannigfachsten Antigene ausprobiert: viele Tuberkulinarten, wie Alttuberkulin (Koch), Bouillon filtrée (Denys), ATO, PTO und andere, verschiedene Jahrgänge des Tuberkulins, welches im Kaiserl. Institut für Experimentelle Medizin zu St. Petersburg, ähnlich dem Alttuberkulin, dargestellt wird¹⁾, ferner Aufschwemmungen sowie wässrige und alkoholische Extrakte von Tuberkelbacillen verschiedener Typen und auch ebensolche Extrakte aus tuberkulösen Organen von Menschen und Tieren. Nach vielen Parallelversuchen mit diesen Antigenen bin ich in meiner Wahl stehen geblieben bei den wässrigen und alkoholischen Bakterienextrakten (nach sorgfältigem Verreiben von 1—2 Monate alten Bouillonkulturen gewonnen im Schüttelapparat) und bei dem Tuberkulin IEM, welches sich durch seine große Konstanz auszeichnet.

Wie außerordentlich wichtig es ist, in jedem Versuche mehrere (Minimum 5—6) der allerempfindlichsten Antigene anzuwenden, davon habe ich mich häufig genug bei meinen Arbeiten überzeugen können. Nicht selten traf ich auf Fälle, wo ein und dasselbe Serum, gleichzeitig mit 15—20 Antigenen geprüft, volle Komplementbindung nur mit 2—3 Antigenen gab, mit den übrigen aber nur unvollkommene Bindung oder sogar komplette Hämolyse. Selbst bei Benutzung nur der allerempfindlichsten und in ganz gleicher Weise hergestellten Antigene wichen doch die Resultate meist voneinander ab, insofern als ein bestimmter Grad von Hämolysehemmung sich nicht mit ihnen allen erzielen ließ.

Indem ich das Serum von spontan erkrankten Menschen und Rindern untersuchte, sowie das Serum von Kaninchen und Meer-schweinchen, welche mit tuberkulösen Organen von Menschen oder Tieren, oder aber mit Reinkulturen eines der oben genannten 4 Typen infiziert waren, ist es mir nicht gelungen, irgendwelche elektiven Eigenschaften der tuberkulösen Antikörper verschiedener Provenienz gegenüber den Antigenen des einen oder des anderen Tuberkelbacillentypus aufzudecken. Gewöhnlich trat Komplementbindung mit den bakteriellen Antigenen (von annähernd gleicher Stärke und Empfindlichkeit) aller 4 Typen ein, oder mit 2—3 von ihnen, welche häufig nicht einmal dem Typus entsprachen, durch den im gegebenen Falle die Erkrankung hervorgerufen war.

Ein ganz anderes Bild ergab die gleichzeitige Anwendung von Antigenen, welche nicht in gleicher Weise dargestellt waren: Bakterienextrakte, Bakterienaufschwemmungen und Tuberkulin IEM. Auf Grund meiner Beobachtungen muß ich die beiden ersteren dem letzteren gegen-

1) Im weiteren werde ich dieses Tuberkulin mit IEM bezeichnen.

überstellen. Die Extrakte und Aufschwemmungen zeigten positive Resultate immer nur mit dem Serum von an Tuberkulose leidenden Individuen. Das Tuberkulin IEM hemmte in diesen Fällen die Hämolyse nicht immer in dem gleichen Maße wie die bakteriellen Antigene und bisweilen sogar überhaupt nicht: so in akut verlaufenden Fällen und frühen Stadien der Tuberkulose, was ich mehrfach an Meerschweinchen feststellen konnte, indem ich ihr Serum einige Tage und dann einige Wochen nach der künstlichen Infektion untersuchte. Wird dagegen das Serum von „tuberkulosefreien“ Tieren (Rindern und Ziegen) nach vorausgegangener Tuberkulinisation untersucht (besonders nach mehrfachen subkutanen Tuberkulininjektionen), so sieht man deutliche Hemmung oder völliges Ausbleiben der Hämolyse nur, wenn das Tuberkulin als Antigen benutzt wird, während mit allen bakteriellen Extrakten und Aufschwemmungen komplette Hämolyse eintritt. Leidet nun aber das tuberkulinisierte Tier an Tuberkulose, so bekommen wir Hemmung resp. Ausfall der Hämolyse sowohl mit Tuberkulin IEM, als auch mit den bakteriellen Antigenen.

Es sei mir gestattet, noch einen Beleg dafür anzuführen, welche Bedeutung die Wahl des Antigens für die Bindungsreaktion bei der Tuberkulose hat. Einer meiner Versuche bestand darin, daß ich Kaninchen periodisch subkutane Injektionen von Extrakten und Aufschwemmungen der verschiedenen Tuberkelbacillentypen sowie von Tuberkulin IEM machte, wobei natürlich jedes Kaninchen immer wieder genau dasselbe Antigen eingeführt erhielt. 2—3 Wochen nach Beginn des Versuches prüfte ich das Serum jedes einzelnen Kaninchens mit allen Antigenen, welche zu dieser Versuchsreihe gehört hatten. Hierbei erhielt ich das sehr demonstrative Bild, daß diejenigen Kaninchen, welche mit bakteriellen Extrakten und Aufschwemmungen behandelt waren, mit allen bakteriellen Antigenen volle Hemmung, mit dem Tuberkulin IEM verschiedene Grade von Hemmung der Hämolyse aufwiesen; wohingegen die Kaninchen, welche Tuberkulin IEM erhalten hatten, auch nur mit diesem volle Hemmung zeigten, mit den bakteriellen Antigenen aber komplette Hämolyse.

Ferner habe ich das Serum von Menschen untersucht, an denen die diagnostischen Lokalreaktionen nach Calmette, v. Pirquet und Mantoux ausgeführt wurden, und zwar sowohl vor als auch in verschiedenen Zeitintervallen nach Anstellung der Probe. Es ist mir nicht gelungen, irgendwelchen Einfluß dieser diagnostischen Tuberkulinanwendungen auf die Komplementbindung aufzudecken.

Ehe ich zur Darlegung der Ergebnisse meiner Blutuntersuchungen übergehe, möchte ich vorausschicken, daß ich als positive Resultate diejenigen betrachtet habe, welche üblicherweise in den Arbeitsprotokollen als volle (++++) , starke (+++) und mittlere (++) Hemmung der Hämolyse bezeichnet werden, als zweifelhafte Resultate schwache Hemmung (+) und als negative Resultate Spuren von Hemmung (±) und komplette Hämolyse (—).

Im ganzen habe ich 292 Sera mit Hilfe der Komplementbindungsmethode untersucht; 116 stammten von Menschen und 176 von Tieren (Rindern, Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen).

Die 116 Personen, mit deren Blute ich gearbeitet habe, können in 4 Gruppen eingeteilt werden.

Die 1. Gruppe betrifft Patienten, bei denen die Tuberkulose sowohl klinisch diagnostiziert, als auch bakteriologisch oder experimentell bestätigt war. Hierher gehören

62 Fälle, und von diesen haben 52 (83,8 Proz.)¹⁾ ein positives Resultat ergeben, 10 (16,2 Proz.) ein zweifelhaftes.

Die 2. Gruppe umfaßt 20 tuberkuloseverdächtige, aber nicht sicher diagnostizierte Fälle. Von ihnen boten 11 (55 Proz.) ein zweifelhaftes, 9 (45 Proz.) ein negatives Resultat.

Die 3. Gruppe bildeten 10 Personen, welche weder klinisch noch bakteriologisch Verdacht auf Tuberkulose erweckten. Bei allen war das Untersuchungsergebnis ein negatives.

Die 4. Gruppe besteht aus 24 Lupuspatienten. Hier wiesen 10 Fälle (41,6 Proz.) ein positives, 14 Fälle (58,4 Proz.) ein zweifelhaftes Resultat auf.

Auch die 176 Versuchstiere lassen sich in 4 Gruppen einteilen.

Die 1. Gruppe: 82 notorisch tuberkulosekranke Tiere, deren Serum in 43 Fällen (52,4 Proz.) positive, in 33 (40,2 Proz.) zweifelhafte und in 6 (7,4 Proz.) negative Reaktion zeigte.

Die 2. Gruppe bestand nur aus einem verdächtigen Tier (Kuh), bei dem die Diagnose klinisch nicht sicher gestellt werden konnte. Die Untersuchung seines Serums gab ein negatives Resultat.

Die 3. Gruppe: 77 gesunde „tuberkulosefreie“ Tiere. Das Resultat war in allen Fällen ein negatives.

Die 4. Gruppe: Hierher sind 16 gesunde Tiere gerechnet, denen aber in der einen oder anderen Form tuberkulöser Antigen eingeführt worden ist. Das Serum derjenigen Tiere, welche eine mehrfache subkutane Injektion von Tuberkulin IEM überstanden hatten, gab ein scharf positives Resultat nur mit dem Tuberkulin IEM, mit allen bakteriellen Antigenen (Extrakten und Aufschwemmungen) dagegen ein absolut negatives. Eine einmalige Tuberkulinisation hatte auch nur ein schwach positives Resultat, und zwar nur mit dem Tuberkulin als Antigen zur Folge. In denjenigen Fällen, wo den Tieren wiederholt bakterielle Antigene eingespritzt worden waren, wurde auch im Bindungsversuch mit allen bakteriellen Antigenen ein scharf positives Resultat erzielt, weniger deutlich ausgesprochen mit dem Tuberkulin IEM.

Sollen die Resultate der Komplementbindungsreaktion bei den notorisch tuberkulösen Menschen und Tieren miteinander verglichen werden, so muß im Auge behalten werden, daß in meinen Versuchen unter den kranken Menschen sich vorwiegend Fälle mit chronisch verlaufender chirurgischer Tuberkulose befanden, während im Gegenteil von den Tieren die Mehrzahl akute und subakute Fälle von ausgebreiteter Tuberkulose der Brust- und Unterleibsorgane darstellte.

Endlich dürfte es von Interesse sein zu vermerken, daß sich unter meinen Patienten einige Fälle von Mischinfektion mit Syphilis und Tuberkulose befanden. Bei der Untersuchung ihres Serums konnte man sowohl mit syphilitischen als auch mit tuberkulösen Antigenen durch die Bindungsreaktion die Anwesenheit der entsprechenden Antikörper konstatieren, und bei einigen Individuen trat deutlich nicht nur ein qualitativer, sondern auch ein quantitativer Unterschied im Befunde dieser Antikörper zutage.

Die ausführliche Darlegung aller Arbeitsprotokolle, welche den vorstehenden Mitteilungen zugrunde liegen, hat demnächst im Zusammenhange mit anderen Experimenten zu erfolgen. Deshalb glaube ich, mich hier auf eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse meiner Komplementbindungsversuche beschränken zu dürfen.

1) Mit dem Serum „tuberkulosefreier“ Menschen und Tiere ist es mir in keinem Falle gelungen, im Komplementbindungsversuch eine Hemmung der Hämolyse zu beobachten.

2) Den größten Prozentsatz an positiven Resultaten zeigte die Reaktion in chronisch verlaufenden Fällen von chirurgischer Tuberkulose, sowie bei Menschen und Tieren, welche an deutlich ausgesprochenen und weit verbreiteten tuberkulösen Prozessen litten.

3) Sehr schwer war es, mit Hilfe dieser Methode die Anfangsstadien von Tuberkulose sicher zu diagnostizieren, welche nur eine schwache

¹⁾ Die Prozentzahlen füge ich nur bei, um bequemere Vergleichswerte zu bieten, denn ich bin mir dessen wohl bewußt, daß die Gesamtmenge meiner Versuche nicht groß genug ist, um eine prozentuale Berechnung zu rechtfertigen.

Hämolysehemmung zeigen, denn eben dieser Grad von Reaktion kommt offenbar bisweilen auch in den Fällen vor, wo wir es mit alten inaktiven Herden zu tun haben (vgl. 2. Gruppe der Menschen und 1. Gruppe der Tiere).

4) Ein völliger Mangel an komplementbindenden Antikörpern kann sowohl in ganz frühen Stadien als auch in ganz schweren Fällen beobachtet werden.

5) Um mit der Komplementbindungsmethode bei Tuberkulose befriedigende Resultate zu erzielen, halte ich es für eine unbedingte Forderung, daß zu jedem Versuche mehrere (nicht weniger als 5—6) besonders empfindliche und auf verschiedene Weise dargestellte Antigene benutzt werden.

6) Der Unterschied in den Typen der Bacillen, welcher bei der Pathogenese der Tuberkulose der verschiedenen Tierarten eine so große Rolle spielt, macht sich bei der Komplementbindungsreaktion in keiner Weise geltend.

7) Die bakteriellen Antigene, d. h. Extrakte und Aufschwemmungen von Tuberkelbacillen verschiedener Provenienz erwiesen sich als die zuverlässigsten, wo es sich um die Diagnose natürlicher und künstlicher Infektion handelte.

8) Die Tuberkuline vom Typus Alt-Tuberkulin ergaben, als Antigen verwendet, bei weitem nicht immer positive Resultate trotz nachweislich vorhandener Infektion: dahingegen halte ich sie nach meinen Beobachtungen für geradezu spezifische Reaktive, wo es sich darum handelt, vorausgegangene subkutane Tuberkulinisation durch den Bindungsversuch nachzuweisen, insbesondere wenn mehrfache Injektionen stattgefunden haben. Die diagnostischen Tuberkulinanwendungen nach Calmette, v. Pirquet und Mantoux erwiesen in meinen Versuchen überhaupt keinen Einfluß auf die Hämolyse bei der Komplementbindungsreaktion.

9) Die subkutane Tuberkulinisation bildete selbst nach wiederholter Ausführung kein Hindernis für die Bestimmung vom Vorhandensein oder Fehlen einer tuberkulösen Infektion durch den Bindungsversuch; nur mußten zu diesem Zweck als Antigene die verschiedenen bakteriellen Extrakte und Aufschwemmungen verwendet werden, welche nicht auf „Antituberkuline“ reagieren.

10) In chirurgischen Fällen von gleichzeitiger Infektion mit Lues und Tuberkulose ist es mir einige Male gelungen, beide Erkrankungs-faktoren durch die Komplementbindungsmethode nachzuweisen.

Nachdruck verboten.

Ueber serumfeste Ruhrstämmе.

[Aus der Bakteriол. Abteilung der hygienisch-chemischen Untersuchungs-stelle beim San.-Amt VII. A.-K. Vorstand: Stabsarzt Dr. Simon.]

Von Dr. Busch,

Oberarzt beim 2. westf. Feldartillerieregiment No. 22.

Die Untersuchungen auf dem Gebiete der Ruhrerkrankungen haben gezeigt, daß bei epidemisch auftretender Dysenterie häufig Bakterien-stämme gefunden werden, die sich zwar kulturell und morphologisch von den gewöhnlichen Flexner- oder Y-Stämmen nicht unterscheiden

33*

jedoch von den spezifischen Immunseris nicht beeinflußt werden. So fand Dörr während einer Wiener Epidemie im Jahre 1905 bei zwei Stämmen vom Typus Flexner eine Serumfestigkeit gegenüber Flexner-Serum, und äußert sich folgendermaßen über diese Erscheinung: „Nach den Erfahrungen der letzten Jahre über inagglutinable Typhusstämmen konnte es sich im vorliegenden Falle um analoge Vorkommnisse handeln. Das klinische Bild glich vollkommen dem einer echten Dysenterie. Es wurden mit diesen zwei Stämmen neue Sera hergestellt, die sich aber auf Flexner-Stämme ebenfalls unwirksam erwiesen; das Serum dieser Patienten agglutinierte die fraglichen Stämme nicht, wohl aber die Flexner-Bacillen.“

Mit Rücksicht auf dieses in serologischer Beziehung unbeständige Verhalten der Ruhrstämmen wurden während einer Epidemie in Rußland in den Jahren 1908 und 1909 von Gabritschewski in Moskau die Serumproben bei den bakteriologischen Untersuchungen überhaupt nicht angewendet, sondern alle Stämme, die morphologisch und kulturell dem *Bacillus dysenteriae* glichen, aufbewahrt und erst später mit Seris, die von diesen Stämmen hergestellt waren, einer Untersuchung auf Agglutinationsfähigkeit unterworfen. Auch Porges und Prantschoff weisen in einer Arbeit über die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des *Bacillus typhi*, darauf hin, daß „in der Literatur Fälle verzeichnet sind, in denen die Inagglutinabilität der untersuchten Kultur die Ursache von Irrtümern und Fehldiagnosen wurde“, und glauben, daß die Bedeutung der Serodiagnostik für praktische Zwecke eingeschränkt werden müsse.

Zwei Fälle von Dysenterie, die klinisch unter dem Bilde echter Ruhr verliefen, sich aber serologisch atypisch verhielten, hatte ich im letzten Jahre Gelegenheit, bakteriologisch zu untersuchen, und möchte sie wegen des praktischen Interesses im folgenden kurz beschreiben:

Der erste Fall betrifft einen Offizier der Garnison, der während der Hitzewelle im August 1912 plötzlich mit Fieber, blutig-schleimigen Stühlen, Tenesmen und großer Hinfälligkeit erkrankte, den für Dysenterie charakteristischen Erscheinungen. Während die Erkrankung vom Patienten selbst auf den Genuß von Pilzen zurückgeführt wurde, wurden ärztlicherseits sofort der Verdacht auf das Vorliegen einer bacillären Ruhr gelenkt und die entsprechenden hygienischen und therapeutischen Maßnahmen getroffen. Um die klinische Wahrscheinlichkeits-Diagnose durch den bakteriologischen Befund bestätigt zu sehen, wurden Stuhlproben untersucht. Auf Drigalski-Agarplatten wuchsen blaue, zarte Kolonien mit geringem Spermageruch. Im gewöhnlichen Ausstrichpräparat wurden Eiterzellen mit gramnegativen, intracellulär liegenden Stäbchen gefunden. Die Agglutination der blauwachsenden, kleinen unbeweglichen Stäbchen mit den vorrätigen Flexner-, Y- und Shiga-Seris (1:100) ergab ein negatives Resultat. Ebenso fielen die Agglutinationsversuche mit Typhus- und Paratyphus B-Serum (1:100) negativ aus. Da eine Blutprobe vom Patienten nicht zu erhalten war, mußte einstweilen unentschieden gelassen werden, ob eine Ruhrerkrankung oder Pilzvergiftung vorlag. — Aus der Krankheitsgeschichte des Patienten möge erwähnt werden, daß sich das Leiden unter anfänglich verabreichten Abführmitteln und späterer Ruhigstellung des Darmes bald besserte, so daß Patient, völlig geheilt, das Manöver mitmachen konnte. Rückfälle sind bis jetzt nicht aufgetreten und auch keine Darmkatarrhe in der Familie des Patienten vorgekommen. Eine Agarkultur des in Frage kommenden Stammes, den ich Stamm B nennen will, wurde zwecks genauerer Identifizierung der Sammlung einverleibt.

Die weiteren Untersuchungen hinsichtlich des morphologischen und kulturellen Verhaltens des Stammes ergaben, daß es sich um ein gram-negatives, plumpes Kurzstäbchen mit lebhafter Wackelbewegung handelte. Eigenbewegung der Stäbchen konnte trotz mehrfacher Untersuchungen und Anwärmen des hängenden Tropfens im Brutschrank niemals festgestellt werden. Auf Drigalski-Agar, dem kein Kristallviolett zugesetzt war, wuchsen zarte, durchsichtige Kolonien von blauer Farbe mit typischem Samengeruch. Bouillon wurde getrübt, Indol nicht gebildet. Neutralrot-Traubenzuckeragar und Milch blieben unverändert. Lackmusmannitagar wurde rot, Maltoseagar blieb blau. Nach dem kulturellen Verhalten handelte es sich also um einen Y-Stamm. Agglutination der Kolonien durch Flexner-, Y- und Shiga-Serum in den Verdünnungen 1:50 und 1:100, trat nicht ein. Die Beobachtungszeit wurde auf 24 Stunden ausgedehnt und die Versuche makroskopisch und mikroskopisch geprüft.

Zur Prüfung der Tierpathogenität wurde eine Maus mit 2 Oesen frischer Kultur, aufgelöst in 5 ccm Bouillon, gefüttert und beobachtet. Am 1. Tage nach der Fütterung machte das Tier sichtlich einen kranken Eindruck und ging in der Nacht vom 2. zum 3. Tage ein. Bei der Sektion fand sich die Milz stark, die Leber mäßig vergrößert. Die Därme waren gebläht und hyperämisch. Der Dünndarm war angefüllt mit weißgelblichen, schleimigen Massen. Weder aus dem Darminhalt, noch aus dem Blut konnte ich den Stamm B herauszüchten. Nach Lentz gelingt es ja auch nur, die Ruhrbacillen aus dem Darminhalt oder Blut heraus zu züchten, wenn die Kulturen intravenös, subkutan oder intraperitoneal injiziert wurden und eine verhältnismäßig große Dosis verwendet wird. Nach Injektion kleiner Dosen, an denen die Tiere erst nach mehrtägigem Kranksein eingehen, sind die Züchtungsversuche nach Ansicht von Kraus und Dörr ebenfalls negativ.

Der Stamm ist also giftig.

Zur weiteren Identifizierung und Prüfung der Tierpathogenität wurde ein Kaninchen mit Stamm B immunisiert. Durch 2 intraperitoneale Injektionen von 2 resp. 4 Oesen frischer Kultur, aufgelöst in physiologischer Kochsalzlösung, gelang es mir, nach 24 Tagen einen Serumtiter des Kaninchenblutes von 1:5000 zu erreichen. Weder nach der ersten noch nach der zweiten Injektion hatte das Tier Kollapstemperaturen oder Lähmungserscheinungen. Der Stuhl war niemals durchfällig. Nach der ersten Impfung wurden Temperatursteigerungen um 1 Grad und Gewichtsabnahme von 50 g beobachtet. Danach handelt es sich also um einen giftarmen Stamm.

Von diesem spezifischen Serum (Titer 1:5000) wurde nicht nur der Stamm B, sondern alle auf der Station vorhandenen Ruhrstämmen vom Typus Flexner und Y agglutiniert, und zwar letztere fast bis zur Titergrenze. Abgelesen wurden die Resultate nach 24-stündigem Verweilen der Versuchsröhrchen im Brutschrank von 37° C. Typhus- oder Paratyphus B-Stämme wurden vom hergestellten Serum nicht beeinflusst, wie aus folgender Tabelle hervorgeht (s. p. 518 oben).

Wiederholt angestellte Nachprüfungen des Stammes B ergaben stets dasselbe kulturelle Verhalten desselben auf Zuckernährböden; nur der Sperrmageruch ließ ab und zu an Intensität nach, verschwand aber niemals ganz. Auch eine Agglutination in Typhus-, Paratyphus-, Enteritis-, Flexner- oder Y-Serum konnte nicht erzielt werden, so daß also im serologischen Verhalten ebenfalls eine Beständigkeit vorhanden war.

Kaninchen- immunserum (Titer 1:5000)	Verdünnung							Kontrolle
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:3000	1:5000	
Paratyphus B	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	—	—	—	—
Stamm B	++	++	++	++	+++	++	+	—
Y 2481	++	++	++	++	++	+	—	—
Flexner	++	++	++	++	++	+	—	—
Y Aut.	++	++	++	++	++	+	—	—

Im zweiten Falle handelt es sich um den Musketier W. (8. I.-R. 159), der am 8. Mai 1913 unter ruhrverdächtigen Erscheinungen erkrankte, und von dem am 9. Mai 1913 eine nur aus Blut und Schleim bestehende Stuhlprobe der Station übersandt wurde. Die Verarbeitung des Materials geschah in der üblichen Weise unter Anwendung aller zur Verfügung stehenden Hilfsmittel. Die Charakteristika der aus dem Stuhl herausgezüchteten kurzen Stäbchen, die mikroskopisch nur Wackelbewegung zeigten, mögen kurz erwähnt werden. Auf Drigalski-Agar bildeten sie zarte, blaue Kolonien mit deutlichem Sperrmageruch. Mannitagar wurde rot gefärbt, Maltoseagar blieb blau. Während in Bouillonröhrchen Wachstum mit Trübung geringen Grades zu verzeichnen war, blieb Lackmusmolke klar unter schwachsaurer Reaktion. Bei Verimpfung auf Barsiekow-Traubenzucker trat Gerinnung und Rötung ein, Barsiekow-Milchzucker wurde nur gerötet. Neutralrot-Traubenzuckeragar und Milch blieben, wie im oben beschriebenen Falle, unverändert. Desgleichen war die Indolreaktion negativ.

Nach diesem morphologischen Verhalten des isolierten Stammes, der seine Wachstumseigentümlichkeiten auch bei späteren Nachuntersuchungen, die noch berücksichtigt werden, nicht änderte, handelte es sich zweifellos um Dysenteriebacillen vom Typus Y. Auch dieser Stamm wurde von den vorrätigen Flexner-, Y- und Shiga-Immunseris in keiner Weise beeinflusst. Die Widalsche Reaktion des Patientenserums, geprüft gegen den eigenen Stamm, ergab Agglutination bis 1:1600, gegen einen sicheren Y-Stamm bis 1:800 und einen Flexner-Stamm bis 1:200 (vgl. folgende Tabelle).

Verdünnung des Patientenserums	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	Kontrolle
Eigener Stamm W	++	++	++	++	++	—
Y-Stamm 1490	++	++	++	+	—	—
Flexner-Stamm	++	+	—	—	—	—

Es handelte sich also anscheinend auch hier um einen serumfesten Y-Stamm.

Die Prüfung der Tierpathogenität ergab eine außerordentlich hohe Virulenz für Kaninchen. Ein Kaninchenbock von 3,5 kg Gewicht, dem eine Oese abgetöteter Kultur in die linke Ohrvene injiziert war, ging nach 24 Stunden unter starken Krankheitserscheinungen, die sich in Kollapstemperaturen und Lähmung des linken Vorderbeines äußerten, ein. Außer einer Milzvergrößerung und einer, wahrscheinlich durch Lähmung der Muskulatur hervorgerufenen starken Füllung der Harnblase konnte

bei der Sektion allerdings kein krankhafter Befund erhoben werden. Die Darmschleimhaut wies keine Entzündung auf, und das Herzblut war steril.

Wegen der überraschenden Giftigkeit dieses Stammes wurde die Immunisierung eines zweiten Kaninchens mit geringeren Dosen begonnen. Durch 3-malige intravenöse Injektionen von 0,3, 0,4 und 1,0 ccm abgetöteter Kulturen gelang es, innerhalb 3 Wochen ein hochwertiges Immunsерum vom Titer 1:16000 zu erhalten. Von diesem Serum wurde der Y-Stamm 2481 noch in der Verdünnung 1:6400, ein Flexner-Stamm bis 1:400 agglutiniert.

Nach dem Ergebnis dieser Versuchsreihen konnte ich mit Bestimmtheit annehmen, daß es sich in beiden Fällen um Y-Stämme handelte, die nur durch eigenes Immunsерum beeinflusst wurden, analog der Tatsache, daß viele Ruhrstämmе von ganz beliebigem Dysenterieserum agglutiniert werden.

In der mir zur Verfügung stehenden Literatur fand ich, daß von Lösener bei einem Soldaten, bei dem vorher Ruhrbacillus Y im Stuhl nachgewiesen war, später aus dem schon wieder normalen Stuhl Bacillen gezüchtet wurden, die sich kulturell wie Bacillus Flexner verhielten, aber weder von Flexner-, Y-, Shiga-, Kruse-, noch von anderen Seris agglutiniert wurden. Ein gleicher Fall wird von Lösener in derselben Abhandlung aus der medizinischen Universitätsklinik Königsberg mitgeteilt. Die Frage, ob die in beiden Fällen gezüchteten Stämme als Erreger der Darmerkrankungen anzusehen sind, bejaht Verfasser. Ähnliches berichtet auch Lorentz in einem Aufsatz „Zur Dysenterie der Irrenanstalten“. Mit keinem der vorhandenen, gewöhnlich gebräuchlichen Sera konnte er eine Zusammenballung der isolierten Ruhrstäbchen erzielen, während die Bacillen durch das eigene Serum agglutiniert wurden. Er knüpft an diese Tatsache die Bemerkungen, „daß das serologische Verhalten der Dysenteriebacillen ein inkonstant-konstantes ist. Konstant ist es insofern, als sich schließlich alle Dysenteriebacillen mit einem entsprechenden Dysenterieserum agglutinieren lassen; inkonstant ist es aber, weil diese Agglutination in ihrer Art und ihrem Grad sehr wechselt und verschiedenartige Seren verlangt.“

Die Nachuntersuchungen des Stammes W Anfang August dieses Jahres hatten ein überraschendes Resultat. Der Stamm hatte sein serologisches Verhalten insofern geändert, als er jetzt sowohl durch Y- als auch durch Flexner-Serum, von beiden bis zur Verdünnung 1:800, agglutiniert wurde. Daneben war die Agglutination mit homologem Serum noch in der Verdünnung 1:30000 deutlich positiv. In kultureller Hinsicht hatte sich Stamm W, wie schon oben erwähnt, nicht geändert; insbesondere war das Wachstum auf zuckerhaltigen Nährböden dasselbe geblieben: Mannitagar wurde rot, Maltoseagar blieb blau. (Die verschiedenen Resultate der einzelnen Untersucher bei Prüfung des Gärungsvermögens sind vielleicht auf verschiedenartigen Grad der Alkaleszenz und zu langes Erhitzen bei Bereitung des Nährbodens zurückzuführen.)

Der Beweis, daß es sich um einen Y-Stamm handelte, wurde weiter durch die Anstellung des Castellianischen Absättigungsversuches gekräftigt.

Aus nachstehender Tabelle geht hervor, daß der Stamm W aus dem homologen Serum (= Y-Serum) die Agglutinine für den Y-Bacillus 2481 und den Flexner-Stamm absättigt (No. 2 und 6). Der Y-Stamm 2481 entfernt aus dem W-Serum nur die nicht-homologen Agglutinine. Daher der positive Ausfall des Versuches No. 1.

No.	Bei Absättigung		und späterer Einsäung von	fiel die Agglutina- tionsprobe aus:
	von	mit		
1	W-Serum	Y 2481	Stamm W	positiv
2	"	Stamm W	Y 2481	negativ
3	"	Flexner-Stamm	Stamm W	positiv
4	"	Y 2481	Flexner-Stamm	"
5	"	Flexner-Stamm	Y 2481	"
6	"	Stamm W	Flexner-Stamm	negativ
7	Flexner-Serum	Flexner-Stamm	Stamm W	"
8	"	Stamm W	Flexner-Stamm	"
9	"	"	Y 2481	"
10	"	Y 2481	Stamm W	"
11	"	Flexner-Stamm	Y 2481	"

Nach diesen Erfahrungen will die Station bei den hier alljährlich sporadisch vorkommenden Ruhrerkrankungen etwa isolierte, ruhrverdächtige Stäbchen zuerst mit dem Immunsrum W agglutinieren in der Annahme, daß die Y-Ruhrstämmen in den einzelnen Gegenden Deutschlands in bezug auf Agglutinabilität verschiedenartig sind.

Literatur.

- Lentz, Handbuch d. pathog. Mikroorgan. Ergänzungsbd. II. 1909.
 Lunz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. H. 1.
 Lösener, ebenda. Bd. 48. H. 3; Bd. 55. H. 4.
 Dörr, ebenda. Bd. 38. H. 4/5.
 Butjagin, ebenda. Bd. 63. H. 2/3.
 Lorentz, ebenda. Bd. 69. H. 3.
 Porges u. Prantschoff, ebenda. Bd. 41. H. 4.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky** und **W. Legeiko**.

Es sind bis jetzt noch wenig Beobachtungen über die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach gemacht worden; die Resultate derselben sind ganz widersprechende. Während einige Autoren positive Resultate mit der Reaktion bekamen, erwies sich die Reaktion bei anderen vollständig negativ.

Hecht, Lateiner und Wilenko fanden, daß die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach sporadisch auftritt und bald verschwindet. An den Leichen bekamen sie öfter positive Resultate, als an den Lebenden. Als Antigen benutzten sie größtenteils Leberextrakte von Scharlachkranken, die sich ebenso spezifisch, wie die Extrakte aus Meerschweinchenherzen, erwiesen haben. Auf Grund ihrer Versuche sprechen die Autoren dieser Reaktion bei Scharlach, trotz der großen theoretischen Bedeutung, keinen praktischen Wert zu.

Ganz günstige Resultate erhielt Barannikoff. Er benutzte Kochsalz-, Alkohol- und Aetherextrakte aus Scharlachorganen und bekam fast in allen von ihm untersuchten Scharlachfällen positive Resultate mit der Komplementbindungsreaktion. Nach seinen Beobachtungen konnte man die Reaktion vom 2. bis zum 40. Tage der Krankheit, d. h. bis zum Momente des völligen Verschwindens der klinischen Krankheitssymptome, erzeugen; ja, er bekam sogar in manchen Fällen 2—3 Wochen nach der völligen Erholung des Patienten positive Resultate. Eine Reihe von Kontrolluntersuchungen ergaben negative Resultate.

Aehnliche Resultate erhielt auch Haendel, der auch Extrakte aus Scharlachorganen als Antigen benutzte.

Foix und Mallein bekamen positive Resultate mit aus dem Blute und dem Rachen Scharlachkranker isolierten Streptokokken als Antigen. Die Kontrolluntersuchungen mit Streptokokken anderen Ursprungs gaben negative Resultate. Analoge Resultate bekam auch Margulies mit Streptokokken, die aus dem Herzen an Scharlach Gestorbener gezüchtet waren. In Fällen von Scharlach ohne Streptokokkenkomplika-tion erhielt sie immer negative Resultate.

Andererseits bekamen Foà, Koch, Kappel, Kolmer und andere absolut negative Resultate sowohl mit Streptokokken, als auch mit Extrakten aus Scharlachorganen als Antigene.

Wenn auch die Frage über die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach kein großes praktisches Interesse hat, da die Scharlachdiagnostik schon rein klinisch gestellt werden kann, so ist es doch rein theoretisch sehr interessant, festzustellen, ob bei Scharlach wirklich komplementbindende Stoffe sich bilden, und falls solche wirklich existieren, wie bald nach der Erkrankung sie erscheinen, wie lange sie im Blute zu konstatieren sind und wann sie endlich verschwinden.

Um diese Fragen beantworten zu können, untersuchten wir 60 Fälle, von denen 14 Kontrollfälle: Polyarthritus acuta 3, Abdominaltyphus 2, Flecktyphus 2, Recurrens 2, Erysipelas 2, Angina 2, Lues cerebri 1. Die Mehrzahl der Scharlachfälle untersuchten wir mehrere Male während des Krankheitsverlaufes.

Da wir die ätiologische Bedeutung der Streptokokken bei Scharlach nicht anerkennen, benutzten wir als Antigen Alkohol- und Kochsalz-extrakte aus Organen von an Scharlach verstorbenen Kindern, hauptsächlich aus Milz, Leber und Lymphdrüsen. Die Kochsalzextrakte bereiteten wir im Verhältnis von 1:5 der physiologischen Kochsalzlösung, die Alkoholextrakte von 1:10. Die einen wie die anderen blieben während 3 bis 4 Tagen bei Zimmertemperatur stehen, dann wurden sie filtriert und titriert. Bei der Titrierung hat sich herausgestellt, daß nicht jedes Ex-trakt zur Reaktionsanstellung brauchbar ist, da einige von ihnen allein für sich antikomplementär wirken.

Anfangs benutzten wir gleichzeitig die Kochsalz- wie auch die Alkoholextrakte; da wir aber bemerkt haben, daß kein Unterschied in der Intensität der Wirkung zwischen beiden Extrakten existiert, so be-nutzten wir nur noch Alkoholextrakte, da die nötige Reaktionsdosis (0,3—0,4) kleiner war, als die der Kochsalzextrakte (0,6—0,8). Das Untersuchungsserum (inaktiv) benutzten wir in der Menge von 0,2 ccm. Die übrigen Komponenten waren dieselben wie bei der Wassermann-schen Reaktion.

Unsere Untersuchungen können folgendermaßen eingeteilt werden: 2 Fälle untersuchten wir je 6mal, 4 Fälle 5mal, 8 Fälle 3mal, 6 Fälle 4mal, 12 Fälle 2mal und 14 Fälle je 1mal. Im ganzen haben wir mit den Kontrolluntersuchungen 132 Versuche angestellt. Das Blut wurde in verschiedenen Krankheitsperioden vom 3. bis am 30. Krankheitstage, wo schon fast keine klinischen Erscheinungen außer der Abschuppung zu beobachten waren, entnommen.

Nach der Intensität der Krankheit können wir 14 zu den schweren, mit verschiedenen Komplikationen verlaufenden Fällen zählen, die übrigen 32 Fälle gehören zu den leichten Formen. Aus den 46 Schar-lachfällen bekamen wir eine Hemmung der Hämolyse nur in 22 Fällen und meistens bei hohen Dosen des Antigens (0,4—0,3). Nur in 3 Fällen erzielten wir eine Hemmung bei einer Antigendosis von 0,1. Von diesen 22 Scharlachfällen gehören nur 6 zu den schweren Krankheitsformen,

die übrigen 16 zu den leichten. Die Hemmung begann am 3. und verschwand schon am 13.—15., und nur in 5 Fällen dauerte sie bis zum 21.—22. Krankheitstage an. Was die übrigen 24 Fälle anbetrifft, so ergaben sie ein negatives Resultat. Von den 14 Kontrolluntersuchungen bekamen wir eine Hemmung der Hämolyse in 2 Erysipelasfällen, 2 Fällen von Polyarthritus acuta und in 1 Anginafall; die übrigen 9 Kontrollfälle ergaben eine völlige Hämolyse. Aus den erwähnten Angaben ist ersichtlich, daß wir eine Hemmung der Hämolyse in annähernd 50 Proz. der Scharlachfälle bekamen.

Wenn wir annehmen, daß die Erscheinung der Hämolysehemmung durch das Vorhandensein von spezifischen Ambozeptoren in den Untersuchungsseris zu erklären ist, so ist es unbegreiflich, warum dieselben nur in 50 Proz. existieren. Ja, die Mehrzahl der die Hemmung gebenden Fälle gehörte zu den leichten, zur völligen Genesung führenden Krankheitsformen. Auf Grund dieser Beobachtung könnte man denken, daß namentlich die leichten Scharlachfälle durch eine Bildung von spezifischen Antikörpern im Blute zu erklären sind. Dagegen spricht aber der Umstand, daß wir in einer ganzen Reihe von anderen leicht verlaufenden Fällen unter gleichen Versuchsbedingungen völlig negative Resultate bekommen haben. Andererseits spricht gegen die Spezifität der Reaktion der Umstand, daß 5 Kontrollfälle, die zu anderen Krankheiten gehören, auch eine Hämolysehemmung ergeben haben. Die Tatsache jedoch, daß wir in einer ganzen Reihe der untersuchten Fälle während des Krankheitsverlaufes wiederholt bei ein und demselben Patienten immer ein positives Resultat mit der Reaktion bekamen, spricht dafür, daß bei einigen Kranken sich im Blute einige Stoffe, die die Hämolysehemmung verursachen, bilden.

Ob diese Stoffe rein spezifisch für Scharlach sind, können wir auf Grund unserer Untersuchungen nicht sagen. Mit noch weniger Recht dürfen wir sie als Antikörper im strengen Sinne ansprechen. Wir können nur sagen, daß diese Erscheinung der Hämolysehemmung, die wir bei 22 Fällen erhielten, nicht der antikomplementären Wirkung unserer Antigene zugerechnet werden kann, wie Kolmer die positiven Resultate anderer Autoren erklärt.

Zum Schlusse müssen wir noch bemerken, daß die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach noch weiterer Bearbeitung bedarf. Unsere Versuche sprechen gegen die Spezifität der Reaktion; sie beweisen nur, daß die Reaktion bei einigen Kranken sporadisch auftritt und nach kurzer Zeit verschwindet. Die weitere Bearbeitung der Frage über das Wesen der Komplementbindungsreaktion überhaupt wird auch die Frage der Komplementbindung bei Scharlach aufklären.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Präzipitation zur Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine.

[Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Kgl. Tierärztl. Hochschule zu Berlin (Direktor: Prof. Bongert).]

Von **Michael Iwicki**,
Unterveterinär an der Kgl. Militär-Veterinär-Akademie.

Einleitung.

Die Präzipitation als spezifische Immunitätsreaktion entdeckt und ihre Verwertbarkeit zu diagnostischen Zwecken dargetan zu haben, ist das Verdienst des Wiener Bakteriologen Rudolf Kraus (1). Er stellte fest, daß in klar filtrierten, keimfreien Bouillonkulturen von Cholera-vibrionen, Typhusbacillen und anderen Bakterien nach Zufügen der homologen Immunsera spezifische Niederschläge auftreten. Das Präzipitationsverfahren fand zunächst nur praktische Verwertung in den Laboratorien zur Identifizierung von Bakterien. Eine allgemeine Verwertung erlangte diese Immunitätsreaktion erst, als Tschistovitsch, Bordet, Ehrlich, Fish, Wassermann und Schütze u. a. nachwiesen, daß es auch gelingt, mit gelöstem tierischen Eiweiß spezifisch präzipitierende Sera herzustellen; es wirkt auch das artfremde tierische Eiweiß als Antigen genau so, wie Bakterieneiweiß.

Eine große praktische Bedeutung haben die mit tierischen Eiweißkörpern hergestellten präzipitierenden Sera für die biologische Eiweißdifferenzierung erlangt, und zwar besonders für den forensischen Nachweis von Menschenblut, sowie in der Fleischbeschau für die Unterscheidung der verschiedenen Fleischsorten, in erster Linie für den Nachweis von Pferdefleisch. Das Verdienst, ein für forensische Zwecke brauchbares Präzipitationsverfahren ausgearbeitet zu haben, gebührt Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern (2). Wegen seiner allgemein anerkannten Zuverlässigkeit ist das biologische Verfahren für die forensische Blutuntersuchung, sowie in der Auslands- und Inlandsfleischbeschau für den Nachweis von Pferdefleisch amtlich vorgeschrieben.

In den letzten Jahren hat nun die bisher nur in den Laboratorien zur Identifizierung von Bakterien benutzte Präzipitation zu serodiagnostischen Zwecken der Rotzkrankheit und vor allen Dingen zur Feststellung des Milzbrandes in den Fällen, in welchen die bakterioskopische Untersuchung sowohl wie das Kulturverfahren wegen vorgeschrittener Fäulnis des zu untersuchenden Materials im Stiche ließ, eine praktische Bedeutung erlangt.

Als bald nach dem Bekanntwerden des Präzipitationsverfahrens zur Identifizierung von Bakterien hatte Wladimiroff (3) versucht, die Methode zur Feststellung der Rotzkrankheit praktisch zu verwerten. Er ist aber über die Versuche nicht hinausgekommen. Etwa 10 Jahr später nahm Pfeiler (4) die Untersuchungen von Wladimiroff wieder auf. Er hat auf Grund umfassender Laboratoriumsversuche auch ein Verfahren angegeben, das augenscheinlich gute Resultate lieferte. Inwieweit dieses Verfahren für die praktische Bekämpfung der Rotzkrankheit brauchbar ist, diese Feststellung steht noch aus. Auch hat es den Anschein, daß inzwischen Pfeiler eine andere Methode der serodiagnostischen Feststellung der Rotzkrankheit der Pferde ausgearbeitet hat, d. i. die Kon-

glutionsmethode (5), als ob der genannte Autor das Präzipitationsverfahren für die Rotzdiagnose hat fallen lassen.

Die praktische Verwertung der Präzipitation zur Feststellung des Milzbrandes bei vorgeschrittener Fäulnis der Milzbrandkadaver haben Ascoli und Valenti (6) zuerst dargetan. Die von diesen beiden Autoren angegebene Methode ist von einer Reihe anderer Forscher nachgeprüft und bestätigt worden. Vor allem haben Schütz und Pfeiler (7) durch Untersuchungen in großem Umfange die Spezifität und die scheinbar absolute Zuverlässigkeit des Ascolischen Verfahrens zur Feststellung des bakteriologisch nicht mehr nachweisbaren Milzbrandes bewiesen. Die mitgeteilten Fehlergebnisse konnten stets auf die Verwendung eines nicht genügend hochwertigen Milzbrandimmunserums zurückgeführt werden. Alle Autoren stimmen darin überein, daß die Zuverlässigkeit des Präzipitationsverfahrens bei Milzbrand lediglich von der Verwendung eines hochwertigen Serums abhängig ist.

Es lag nun nahe, das Präzipitationsverfahren in der von Ascoli angegebenen und den praktischen Bedürfnissen angepaßten Arbeitsmethode, d. i. die Thermopräzipitation, auch bei anderen Tierseuchen in Anwendung zu bringen, deren Feststellung bei vorgeschrittener Fäulnis und in Anbetracht des häufig nicht charakteristischen pathologisch-anatomischen Befundes unsicher ist. Ascoli (8) hatte bereits auf die Verwertbarkeit seiner Methode zur Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine hingewiesen, als mir von Herrn Prof. Bongert der Auftrag gegeben wurde, die praktische Verwertbarkeit des Präzipitationsverfahrens nach Ascoli zur Feststellung des Schweinerotlaufs nachzuprüfen. Man glaubte bisher berechtigt zu sein, den Rotlauf der Schweine in der veterinär-polizeilichen Praxis lediglich auf Grund der pathologisch-anatomischen Veränderungen, speziell der auffälligen Rotfärbung der Haut verbunden mit Milztumor, hämorrhagischer Gastroenteritis und einer trüben Schwellung und hämorrhagischen Entzündung der Nieren, feststellen zu können. Man hat daher meist von dem bakterioskopischen und kulturellen Nachweis der Rotlaufstäbchen, der allein die Diagnose „Rotlauf“ sichert, wegen seiner Umständlichkeit Abstand genommen. Bei dieser Sachlage schien es erwünscht, für die veterinärpolizeiliche Seuchenbekämpfung ein Verfahren ausfindig zu machen, das den Bedürfnissen der Praxis Rechnung trägt und auch dieselbe Sicherheit gewährt, wie der direkte Nachweis der Rotlaufbacillen durch Mikroskop oder Kultur.

Die Untersuchungen habe ich im Frühjahr 1912 auf dem städtischen Schlachthof zu Berlin begonnen und, da die Verhältnisse drängten, in einer vorläufigen Mitteilung das Ergebnis der bis dahin vorliegenden Untersuchungen kurz veröffentlicht (9).

Wie bereits erwähnt, ist Ascoli (8) der Ansicht, daß die Thermopräzipitinreaktion als allgemeine serodiagnostische Methode bei den verschiedenen Seuchen ohne große Mühe anzuwenden ist, vorausgesetzt, daß die Herstellung eines spezifisch präzipitierenden Serums möglich und die Thermoresistenz des Präzipitinogens festgestellt ist. Beide Vorbedingungen treffen nach den Angaben von Ascoli für den Rotlauf der Schweine zu, und er empfiehlt daher, die Thermopräzipitinreaktion in derselben Weise wie bei Milzbrand, auch zur Diagnose des Schweinerotlaufs in Anwendung zu bringen. Die Gewinnung von präzipitierendem Rotlaufserum soll, wie Ascoli angibt, viel leichter gelingen als die von präzipitierendem Milzbrandserum. Auch erwies sich das Präzipitinogen der verschiedenen darauf geprüften Rotlaufbacillenstämme in der Tat als hitzebeständig. Ascoli selbst hat die Präzipitation zur Diagnose des Schweinerotlaufs

nur in wenigen Fällen anwenden können und in diesen ein positives Ergebnis erzielt.

Literatur.

Die Mitteilung von Ascoli über die Verwertbarkeit der Präzipitation für die Diagnose des Rotlaufs der Schweine veranlaßte mich, wie erwähnt, zur Nachprüfung. Ueber die Ausführung der Untersuchungen wird im speziellen Teil das Nähere mitgeteilt werden. In der erwähnten vorläufigen Mitteilung (9) erklärte ich es für möglich, daß das Ascolische Verfahren eine praktische Verwertung bei der Feststellung des Schweinerotlaufs finden könnte. Voraussetzung sei aber die Herstellung eines hochwertig präzipitierenden Serums. Auffallend war meine Feststellung, daß ich nicht nur bei fauligen Organen rotlaufkranker Schweine ein positives Ergebnis bekam, sondern auch mit den Extrakten aus fauligen Organen nicht-rotlaufkranker Schweine, die an Tuberkulose oder Schweinepest gelitten hatten, und zwar zeigte sich fast ausnahmslos, daß die fauligen Organe stärkere Präzipitation gaben als vorher bei der Untersuchung im frischen Zustande.

Während der Fortsetzung meiner Untersuchungen erschienen mehrere Publikationen, welche die Verwertbarkeit des Ascolischen Präzipitationsverfahrens für die Diagnose des Schweinerotlaufs zum Gegenstand hatten.

Zunächst ist die Arbeit von Silva (10) zu erwähnen, der mit drei von Prof. Ascoli ihm zur Verfügung gestellten Serumproben Untersuchungen anstellte. Mit Organextrakten von rotlaufkranken Schweinen erhielt Silva stets positive, mit nicht von rotlaufkranken Schweinen stammenden Organextrakten stets negative Ergebnisse. Er schließt aus diesem Ausfall der Reaktionen auf eine spezifisch präzipitierende Wirkung der Ascolischen Sera. Auch mit Extrakten von in Zersetzung begriffenem Rotlaufmaterial gaben die Sera deutliche Präzipitationen. Es geht aber aus seinen Angaben nicht hervor, daß er bei den Versuchen mit fauligem Material von Rotlaufschweinen auch die entsprechenden Kontrollproben mit fauligem Material gemacht hat, das von nicht-rotlaufkranken Schweinen stammte.

Weiter hat Rübiger (11) das Ascolische Verfahren bei an Impfrotauf eingegangenen Mäusen nachgeprüft. Er hatte eindeutige Resultate insofern, als Organextrakte von diesen Mäusen mit Ascoli-Serum stets Präzipitation zeigten, die Kontrollversuche dagegen stets negativ ausfielen. Rübiger bezeichnet zur Herstellung der Organextrakte die Leber als besonders geeignet.

Nach Profé (12) soll die Präzipitation ein wertvolles Hilfsmittel zur Feststellung des Milzbrandes und des Stäbchenrotlaufs sein, das in manchen Fällen noch ein Resultat gibt, wenn die sonstigen Methoden versagen.

Ferner hat Declich (13) Präzipitationsversuche bei Rotlauf angestellt; er kommt zu folgenden Ergebnissen: 1) Frisches Rotlaufimmenserum vom Pferd, Rotlaufbacillenextrakt oder Rotlauforganextrakt aufeinander geschichtet, geben deutliche sofortige Präzipitation in Form eines weißen Ringes. Die stärksten Präzipitationen geben Extrakte aus dem Herzen und der Leber. 2) Ferner bekommt man positive Resultate auch mit frischen und getrockneten Hautstücken rotlaufkranker Tiere. 3) Die Reaktion ist positiv auch bei alten oder faulen Rotlauforganen, wird aber bei Aufbewahrung derselben in Alkohol entschieden schwächer. 4) Kontrollversuche mit Haut- und Organextrakten von gesunden Schweinen oder solchen, die an Schweineseuche oder Schweinepest eingegangen waren, blieben negativ.

Zagaja (14) erhielt bei der Prüfung von Rotlaufmaterial nach dem Ascolischen Präzipitationsverfahren stets positive Reaktionen, wenn auch mitunter verschieden stark. Die Kontrollproben fielen negativ aus. Zagaja ist der Ansicht, daß die Serumproben, die Prof. Ascoli ihm zur Verfügung gestellt hatte, nicht gleichwertig waren. Er ist daher der Meinung, daß die Thermopräzipitinreaktion bei Rotlauf nicht so sicher sei wie bei Milzbrand. Bemerkenswert ist, daß er in Uebereinstimmung mit meinen Untersuchungsergebnissen mit fauligem Rotlaufmaterial schnellere und dichtere Niederschläge erhielt. Kontrollversuche mit fauligem Material von nicht-rotlaufkranken Schweinen sind in der Arbeit nicht erwähnt.

Zwecks Prüfung des Präzipitationsverfahrens beim Schweinerotlauf stellte Seibold (15) Versuche mit zwei ihm von Ascoli überlassenen Seris an. Die Diagnose des zu prüfenden Materials hatte er vorher stets bakterioskopisch und kulturell gesichert. Unter 25 Rotlauffällen gab die Präzipitinreaktion 4mal ein negatives Resultat. Unter 15 Fällen, in denen durch die bakteriologische Untersuchung die Diagnose Rotlauf nicht gestellt werden konnte, beobachtete er 3mal eine positive Reaktion. Seibold bringt diese Resultate mit der in den vorliegenden Fällen vorhandenen starken Fäulnis der Organe in Zusammenhang und bestätigt somit meine in der vorläufigen Mitteilung erwähnten Fehlresultate. In den übrigen 12 Fällen stimmte das Resultat der Präzipitinreaktion mit dem bakteriologischen Befund überein, indem beide negativ ausfielen. Die Zeit des Eintrittes der Reaktion und die Deutlichkeit derselben waren analog meinen

Untersuchungen ebenfalls sehr verschieden. Hinsichtlich der Spezifität der beiden ihm von Ascoli zur Verfügung gestellten Sera zeigen seine Versuche also, daß weder das eine noch das andere so spezifisch war, daß Fehlresultate nicht zu verzeichnen gewesen wären. Während das erste Serum auch mit Extrakten aus fauligen Organen von Schweinen, die an Schweineseuche verendet waren, positive Ergebnisse lieferten, blieb bei Verwendung des zweiten Serums in einigen Fällen, in denen durch die bakteriologische Untersuchung Rotlauf nachgewiesen war, die Reaktion aus. Seibold läßt die Frage offen, ob es gelingt, ein so hochwertiges präzipitierendes Serum herzustellen, daß es nur bei Rotlauf wirkt, bei anderen Schweinekrankheiten und bei Fäulnis aber ein negatives Resultat zeitigt.

Auf Grund ihrer Präzipitationsversuche beim Schweinerotlauf kommen Isabolinsky und Patzewitsch (16) zu folgenden Schlüssen: „1) Die Reaktion nach Ascoli hat beim Rotlauf die Bedeutung eines leichten und schnellen Diagnoseverfahrens und ist beim Rotlauf spezifisch. 2) Man bekommt die Reaktion nicht nur mit Ascoli-Serum, sondern mit verschiedenen Rotlaufheilsers; diese Sera haben jedoch nicht alle den gleichen präzipitierenden Wert. 3) Die Präzipitinreaktion tritt auch ein mit von fauligem Rotlaufmaterial stammenden Organextrakten und ist hier noch stärker ausgeprägt als bei den Präzipitationsversuchen mit frischem Rotlaufmaterial. 4) Desinfektionsmittel verändern die Resultate der Reaktion nicht, eine sorgfältige Entfernung derselben aus dem Material vorausgesetzt. 5) Am schärfsten und ausgeprägtesten sind die Resultate mit Herz- und Milzextrakt. 6) Serum und Extrakte müssen zum Zweck richtiger Verwertung der Resultate stets absolut rein und durchsichtig sein.“

Drescher prüfte das Ascolische Verfahren an Schweinekadavern, bei denen die Diagnose „Rotlauf“ durch die bakteriologische Untersuchung gesichert war. Er verwendete bei seinen Untersuchungen 5 Sera, die von Ascoli zur Verfügung gestellt waren, 6 verschiedene Sera, die von der Prenzlauer Serumanstalt bezogen und durch Behandlung von Pferden mit Rotlaufstämmen gewonnen waren, und einige der im Handel käuflichen Rotlaufsera. Organextrakte einer an Rotlauf verendeten Taube ergaben mit Ascolischen Seris eine sehr starke Reaktion, die Extrakte von Herz und Magen aber schon beim Zusammenbringen mit normalem Pferde- und Rinderserum nicht-spezifische Ringe. Organextrakte von Mäusen, die an Rotlauf verendet waren, lieferten ebenso starke Präzipitationen wie solche von gesunden Mäusen. Die Organextrakte eines an Rotlauf eingegangenen Kaninchens ergaben ein vollkommen negatives Resultat. Bei Versuchen mit Schweineorganen fiel die Präzipitation positiv aus in Fällen, in denen Rotlaufbacillen direkt nachweisbar waren, negativ aber in 2 Fällen, in denen Rotlauf nur durch Impfung von Mäusen nachgewiesen werden konnte. Hierbei beobachtete Drescher, daß die Ascolischen Sera am hochwertigsten, die gewöhnlichen Impfsra am minderwertigsten waren, und daß die Präzipitationsfähigkeit der einzelnen Immunsera eine relative insofern war, als ein Serum mit einem homologen Extrakt starke und mit einem anderen homologen Extrakt schwache Reaktion zeigte. Nach diesen Vorversuchen prüfte Drescher die Präzipitation an Organen von im ganzen 75 Schweinen, die an Rotlauf eingegangen waren. Wiederum war die Reaktion eine positive in Fällen, in denen Rotlaufbacillen im gefärbten Ausstrichpräparat nachgewiesen werden konnten. Nur in einem Falle war ein Fehlresultat zu verzeichnen. Ungünstiger waren die Resultate in Fällen, in denen der Rotlauf nur durch den Impfversuch festgestellt werden konnte, und zwar fiel die Reaktion in 10 Fällen positiv, dagegen in 13 Fällen negativ aus. In 22 Fällen waren die Schweine an einer anderen Krankheit eingegangen. In 15 dieser Fälle war die Reaktion negativ und in 7 dagegen positiv. Trotz dieser wenig befriedigenden Ergebnisse prüfte Drescher außerdem noch, ob die Präzipitation imstande ist, an faulen Schweineorganen die Rotlaufinfektion anzuzeigen. Extrakte aus Milzen und Nieren, die stark in Fäulnis übergegangen waren, gaben aber, ganz gleichgültig, ob sie von gesunden oder von rotlaufkranken Schweinen stammten und ob vorher die Extrakte aus denselben Organen im frischen Zustande eindeutige Resultate geliefert hatten oder nicht, stets ein starkes Präzipitat.

Auch Drescher hat somit meine in der vorläufigen Mitteilung erwähnten Ergebnisse bestätigt. Er kommt schließlich zu dem Resultat, daß die Ascolische Thermopräzipitinreaktion für die praktische Diagnose des Rotlaufs unbrauchbar sei. Die nicht befriedigenden Ergebnisse finden seiner Ansicht nach ihre Erklärung dadurch, daß die Rotlaufbacillen mitunter in zu geringer Anzahl in den inneren Organen vorhanden sind, so daß die Extrakte zu wenig Antigen enthalten. Für die Untersuchung von hochgradig faulem Material sei die Thermopräzipitationsmethode absolut ungeeignet.

Eigene Untersuchungen.

Die zur Nachprüfung des Ascolischen Verfahrens zur Feststellung des Schweinerotlaufs im Jahre 1912 angestellten Untersuchungen wurden im Frühjahr dieses Jahres von mir wieder aufgenommen. Vor allem

habe ich das Augenmerk darauf gerichtet, durch methodische Impfung einer größeren Zahl von Kaninchen hochwertig präzipitierende Sera herzustellen, von deren Besitz genau so wie bei Milzbrand die Zuverlässigkeit und insbesondere die praktische Verwertbarkeit der Präzipitation als diagnostisches Hilfsmittel abhängig ist.

Das Massenmaterial an plötzlich unter Rotlauferscheinungen gestorbenen Schweinen auf dem Berliner städtischen Schlachthof bot mir die beste Gelegenheit, das Ascolische Verfahren auf seine Zuverlässigkeit beim Rotlauf der Schweine auszuprobieren. Zu diesen Untersuchungen hat mir Herr Prof. Ascoli in der liebenswürdigsten Weise Rotlaufimmunserum zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle ergebenst danke. Außerdem verwendete ich zu den Versuchen noch die Rotlaufsera von zwei deutschen Rotlaufimpfanstalten. Bei den untersuchten Schweinekadavern wurde zunächst durch die bakterioskopische Untersuchung und durch die Kultur die Diagnose Rotlauf gesichert oder ausgeschlossen. Mit dem Material von diesen Schweinen wurde die Ascolische Thermopräzipitinreaktion angestellt, und zwar genau in derselben Weise wie bei Milzbrand. Es wurde das Rotlaufimmunserum mit der aus den zu untersuchenden Organen hergestellten Testflüssigkeit überschichtet. Sind Testflüssigkeit und Immunserum homolog, dann soll an der Berührungsstelle Präzipitation in Form einer ringförmigen Trübung eintreten. Kontrollversuche wurden angestellt mit Organextrakten von Schweinen, die nicht an Rotlauf erkrankt oder gestorben waren und auch mit Extrakten von anderen Tieren. Und außerdem wurde bei jeder Probe die zu den Extrakten verwendete physiologische NaCl-Lösung mit dem Immunserum geschichtet.

Die Reaktion wurde in kleinen Uhlenhuthschen Reagensgläsern (8 mm Lichtweite) ausgeführt, die ebenso wie die Filter vor dem Ansetzen der Proben stets sorgfältig sterilisiert wurden.

Die als Testflüssigkeit dienenden Organextrakte wurden in der Weise hergestellt, daß etwas zerkleinerte Organsubstanz mit physiologischer NaCl-Lösung etwa im Verhältnis 1:5 in einem sterilen Reagensglase aufgeschwemmt und im Wasserbade bei 100° C 3—5 Minuten erhitzt wurde. Nach dem Erkalten, das unter der Wasserleitung beschleunigt wurde, filtrierte ich die Organaufschwemmung durch einen sterilen Asbestfilter, den ich mir folgendermaßen herstellte: Ein Reagensglas wurde über der Bunsenflamme in der Mitte ausgezogen und durchgebrochen. In den oberen trichterförmigen Teil stopfte ich schichtweise zunächst etwas Watte, dann gereinigten und sterilisierten Asbest und oben wieder etwas Watte. Durch dieses mäßig fest gestopfte, in strömendem Wasserdampf sterilisierte Filter wurde die erhitzte und abgekühlte Organaufschwemmung filtriert. Zeigte sich eine Probe des Filtrates vollkommen klar, so steckte ich den Trichter in das mit dem präzipitierenden Serum gefüllte Uhlenhuthsche Reagensgläsern. Das Filtrat floß dann langsam an der Wand des Röhrchens entlang und schichtete sich scharf abgesetzt über das Serum. Man beobachtet dann die Berührungsfläche zwischen den beiden Flüssigkeiten bei von oben einfallendem Licht auf den Eintritt einer Präzipitation.

Das von Ascoli zur Verfügung gestellte präzipitierende Serum war vollkommen klar und durchsichtig und befand sich in der Menge von etwa 1 cm in kleinen zugeschmolzenen Röhrchen, wie sie in Heft 10 der Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 1912 bildlich dargestellt sind (8). Da der Inhalt einer Phiole zur Anstellung eines Versuches samt den erforderlichen Kontrollen (mit physiologischer NaCl-Lösung für sich und

mit Organextrakten von nicht an Rotlauf gestorbenen Tieren) nicht ausreichte, so vermischte ich je nach der Zahl der anzustellenden Proben den Inhalt mehrerer Serumröhrchen. Hierzu sah ich mich auch durch die Feststellung veranlaßt, daß das Serum verschiedener Phiolen sich bei denselben Organextrakten von Rotlaufmaterial graduell verschieden verhielt, daß sich sogar in einigen Fällen positive und negative Resultate gegenüberstanden. Ich glaube somit annehmen zu können, daß das zur Verfügung gestellte Serum von verschiedenen Serumtieren stammte, die verschiedenartiges Serum geliefert hatten.

Ich verwendete in fast allen Fällen Niere oder Milz oder beide Organe von verendeten oder in der Fleischschau als untauglich bezeichneten Schweinen, bei denen in jedem Falle die Diagnose, ob Rotlauf vorlag oder nicht, bakterioskopisch und kulturell gesichert war.

In der ersten Versuchsreihe (vgl. Tabelle I) wurden Organextrakte von noch nicht in Fäulnis übergegangenen Schweinen, die an Rotlauf verendet waren, verwendet. Die Thermopräzipitinreaktion fiel überall positiv aus, jedoch waren in den einzelnen Proben bezüglich der Ringbildung, was Zeit und Stärke anbelangt, große Unterschiede wahrzunehmen.

Tabelle I.
Versuchsreihe mit Rotlauforganen.

No. des Tieres	I. ¹⁾ Ausfall der Reaktion mit frischen Organen	Alter der Fäulnis in Tagen	II. Ausfall der Reaktion	Alter der Fäulnis in Tagen	III. Ausfall der Reaktion
1	+	12	++	30	+
2	+	15	+++	25	++
3	+++	15	+++	24	+++
4	+	15	++	24	+++
5	+	15	++	24	—
6	+++	15	+++	24	+++
7	+++	18	—	34	++
8	++	15	+++	31	++ } ++ }
9	+	6	+++	21	++
10	+	6	++	14	++
11	++	4	— } ++ }	12	— } — }
12	— } ²⁾ +++ }	8	+++	15	+++

Von 12 Versuchen trat in 4 Fällen sofortige deutliche Ringbildung ein, in 2 Fällen entstand innerhalb von 10 Minuten ein mäßig deutlicher Ring. In den übrigen 6 Fällen konnte man erst nach 10–20 Minuten eine ganz schwache Trübung an der Berührungsstelle von Organextrakt und Ascoli-Serum sehen, die einem ungeübten Auge wohl kaum aufgefallen wäre. Erwähnen will ich noch, daß in dem einen der 4 Fälle, wo sofortige deutliche Ringbildung eintrat, zuerst der Ausfall der Reaktion ein total negativer war, und daß erst bei der Wiederholung des Versuches mit dem Serum einer anderen Phiole eine deutliche Ringbildung eintrat. Der verschieden starke und schnelle Ausfall der Reaktion dürfte

1) +++ = sofortige deutliche Ringbildung; ++ = mäßig deutlicher Ring innerhalb 10 Minuten; + = schwache Trübung zwischen 10 und 20 Minuten; — = negativ.

2) Die Klammer besagt, daß bei diesem Organextrakt der Präzipitationsversuch mit dem Inhalt einer anderen Phiole wiederholt wurde.

wohl auf den verschiedenen Bakteriengehalt der verwendeten Organteile zurückzuführen sein, wie auch G a s p e r i (18) bei der Milzbrandpräzipitation die Anzahl der Milzbrandbacillen mit der Intensität der Reaktion in Verbindung bringt.

Die neben diesen Versuchen einhergehenden Kontrollversuche (siehe nachstehende Tabelle II) mit frischem Material von nicht an Rotlauf verendeten oder anderweitig beschlagnahmten Schweinen (Herz- und Lungenlähmung, Tuberkulose, Fischigkeit, Schweineseuche, Schweinepest) ergaben alle bis auf einen negative Resultate. In dem einen Falle (Schweineseuche) trat sofortige Ringbildung ein.

Tabelle II.

Versuchsreihe mit den frischen Organen nicht-rotlaufkranker Schweine.

No. des untersuchten Tieres	Pathologisch-anatomischer Befund	Ausfall der Reaktion
13	Herz- und Lungenlähmung	—
14	dgl.	—
15	"	—
16	"	—
17	"	—
18	Tuberkulose	—
19	dgl.	—
20	Fischigkeit	—
21	Herz- und Lungenlähmung	—
22	Milz gesund	—
23	Schweineseuche	—
24	dgl.	+++
25	Schweinepest	—

Von den Organen der Rotlaufschweine wurde Material in sterilen Erlenmeyerschen Kolben 4—34 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeiträumen wurde das mehr oder weniger stark in Fäulnis übergegangene Material nochmals je zweimal auf seine Präzipitierbarkeit mit dem Ascolischen Rotlaufserum geprüft. Es trat nun die Ringbildung einerseits bedeutend schneller und stärker ein als bei der früheren Verwendung im frischen Zustande (siehe Tabelle I). Andererseits versagte die Ringbildung in 3 Fällen total. Die raschere und deutlichere Ringbildung durch eine postmortale Vermehrung der Rotlaufbacillen erklären zu wollen, wozu auch ich anfangs geneigt war, ist nicht angängig, da die Kontrollversuche (vgl. Tabelle III) mit faulem

Tabelle III.

Versuchsreihe mit faulen Organen von nicht an Rotlauf verendeten Schweinen.

Dauer der Fäulnis in Tagen	Pathologisch-anatomischer Befund	Ausfall der Reaktion
5	Tuberkulose	++
6	Schweineseuche	—
4	Schweinepest	—
8	Herz- und Lungenlähmung	—
21	Tuberkulose	++
16	Herz- und Lungenlähmung	+++
16	Milz gesund	—
14	Schweineseuche	—
12	Schweinepest	+++

Erste Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 5/7

34

Material von nicht an Rotlauf verendeten Schweinen teils positive, teils negative Reaktionen ergaben. Und zwar zeigte sich das Merkwürdige, daß diese heterologe Präzipitation an Intensität des raschen Eintrittes und der Deutlichkeit der mit faulen Organen von Rotlaufschweinen nicht nachstand.

Zu meinen im Frühjahr dieses Jahres wieder aufgenommenen Untersuchungen, zu deren Ausführung mir Herr Prof. Ascoli in der liebenswürdigsten Weise wiederum das erforderliche Serum zur Verfügung stellte, verwendete ich Material (Milz, Niere), das von außerhalb zur Untersuchung auf Rotlauf an das Hygienische Institut der hiesigen Hochschule eingesandt worden war. Um nun ein objektives Urteil über den Wert und den Ausfall der Präzipitation fällen zu können, führte ich die Thermopräzipitinreaktion mit dem eingesandten Material aus, ohne die Todesursache oder den Ausfall der bakteriologischen Untersuchung zu kennen. Letztere wurde von den Herren Kollegen des genannten Instituts ausgeführt. Beim späteren Vergleichen der Untersuchungsergebnisse zeigte sich, daß die Ergebnisse der Präzipitation nicht immer den einwandfreien bakteriologischen Diagnosen entsprachen (vgl. Tabelle IV). Wie aus Tabelle IV weiter ersichtlich ist, trat von 11 Fällen, in denen Rotlauf bakterioskopisch und zum größeren Teil auch durch die Impfung nachgewiesen worden war, Präzipitation 9mal ein, in 2 Fällen versagte sie. Von 8 Fällen, in denen kein Rotlauf festgestellt wurde, war die Reaktion 5mal positiv und 3mal negativ. Bei Organextrakten von Schweinemilzbrand und Hühnerpest fiel die Präzipitation negativ, bei

Tabelle IV.
Versuchsreihe mit von außerhalb zur Untersuchung eingesandtem Material.

Material vom Schwein	Mikroskopische Untersuchung	Diagnostische Impfung	Ausfall der Thermopräzipitinreaktion
	auf Rotlauf		
Milz, Niere	positiv	positiv	++
Milz	zweifelhaft	negativ	—
Milz, Niere	negativ	"	—
Milz, Niere	positiv	"	++
Milz, Niere	"	positiv	+
Milz	zweifelhaft	"	+++
Milz, Niere	negativ	negativ	++
Muskelfleisch mit Miescher- schen Schläuchen	.	.	+
Milz, Niere	positiv	positiv	++
Milz	Milzbrand	Milzbrand	—
Milz, Niere	zweifelhaft	negativ	+++
Herz, Niere	negativ	"	+++
Milz, Niere	positiv	"	+++
Milz, Niere	"	positiv	—
Milz, Niere	negativ	negativ	—
Leber	positiv	positiv	++
Milz, Niere	"	"	+++
Milz, gesund	"	"	++
Maus, an Impfrotauf verendet	positiv	.	+
dgl.	"	.	—
Rotlauf-Bouillonkulturextrakt	.	.	+++
Herz und Blut vom Huhn mit Hühnerpest	.	.	
Rotlauf-Bouillonkulturextrakt	.	.	—
Schweinepest-Bouillonkultur- extrakt	.	.	—

Extrakten von Rotlaufbouillonkultur 1mal positiv und 1mal negativ und bei Schweinepest-Bouillonkulturextrakt negativ aus.

Eine weitere Versuchsreihe wurde mit fauligem Material verschiedenster Art, darunter auch von Rotlauf, angestellt.

Tabelle V.
Versuchsreihe mit verschiedenartigem fauligen Material.

Material	Alter der Fäulnis in Tagen	Ausfall der Reaktion
Schweineniere, Rotlauf	64	+++
Maus, an Impfrotlauf verendet	68	++
Maus, an Impfschweinepest verendet	70	—
Maus, an Impfrotlauf verendet	67	+++
Maus, an Impfschweinepest verendet	71	+
Schweinemilz, kein Rotlauf	48	+
Rindermilz	76	+
Schweinemilz und -niere, kein Rotlauf	60	—
Schweinemilz und -niere, Rotlauf	68	+++
Schweineniere, kein Rotlauf	50	++

Tabelle V zeigt, daß ich beim Anstellen der Präzipitationsproben mit Organextrakten von hochgradig fauligem Material fast überall bis auf 2 Fälle positive Reaktionen erhielt, gleichgültig, ob das Material von rotlaufkranken Tieren stammte oder nicht. Allerdings trat die Reaktion bei den von Rotlauf stammenden Organextrakten schneller und deutlicher hervor als bei heterologem Material. Die zwei negativen Ergebnisse zeigten sich bei Material, das nicht von Rotlaufkadavern stammte.

Ganz unbrauchbar zur Rotlaufdiagnose durch Präzipitation erwiesen sich die zum Vergleich herangezogenen Rotlaufsera der Firma Gans und der Prenzlauer Serumanstalt. Die etwas trüben Sera mußten zunächst durch Filtration mittels Asbest (vgl. oben) für den Präzipitationsversuch klar filtriert werden. Die Versuche mit diesen beiden Serumarten liefen zum Teil mit den mit dem Ascolischen Serum angestellten parallel. Die Ergebnisse waren durchaus nicht übereinstimmend. Nach beiden Richtungen hin traten heterologe Trübungen auf derart, daß Extrakte aus Organen von Tieren, die nicht an Rotlauf gestorben waren, Präzipitation zeigten, dagegen Extrakte aus Rotlaufmaterial nicht präzipitiert wurden.

Die vergleichenden Untersuchungen mit diesen 3 Serumarten lassen einen Unterschied zugunsten des Ascolischen Serums erkennen insofern, als dieses weniger Fehlergebnisse lieferte als das Serum von Gans und Prenzlau. Mit Rücksicht hierauf und vor allen Dingen in Anbetracht der erprobten Zuverlässigkeit hochwertigen Milzbrandserums zur Feststellung des Milzbrandes durch Präzipitation drängte sich mir der Gedanke auf, daß es vielleicht doch gelingt, durch methodische Impfungen von Versuchstieren mit massiven Dosen Rotlaufbacillenkultur solche Sera zu gewinnen, welche sich auch nach jeder Richtung hin als spezifisch erweisen. Ich verwendete zu den Versuchen 6 Kaninchen, welche in Intervallen von meist 8 Tagen 10mal mit mehrere Tage alten dicht bewachsenen Rotlaufbouillonkulturen zuerst intraperitoneal, später intravenös geimpft wurden. Die Impfdosis wurde allmählich gesteigert bis zu 10 ccm intravenös. Um den Impftieren noch größere Mengen Rotlaufbacillen einzuverleiben, wurden etwa sechs 24—48-stündige Rotlaufbacillenkulturen auf Agar in weiten großen Reagensröhren mit Rotlaufbacillen-Bouillonkultur abge-

Tabelle VI.
Versuchsreihe mit Prenzlauer, Ascolischem und Gansschem Rotlaufimmunserum.

Material	Ausfall der Thermo- präzipitin- reaktion mit		Material nur vom Schwein	Ausfall der Thermo- präzipitin- reaktion mit	
	Prenz- lauer Serum	Ascoli- Serum		Gans- schem Serum	Ascoli- Serum
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	+++	++	Schweineseuche, frisch	—	—
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	—	—	dgl.	—	+++
Rotlauf-Schwein	++	++	Schweinepest	—	—
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	—	—	Tuberkulose, 21 Tage	—	++
Impfrotlauf-Maus	++	++	Herz- und Lungenlähmung	—	—
Schwein, Niere, Rotlauf, 64 Tage	—	+++	dgl., 16 Tage	+++	+++
2 Rotlauf-Mäuse, 68 Tage	+	+++	Milz, gesund, 16 Tage	+	—
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	+	—	Schweineseuche, 6 Tage	+	—
Schwein, Milz, Rotlauf	+	++	Schweinepest, 4 Tage	—	—
Impfrotlauf-Maus	—	—	Schweineseuche, 14 Tage	+	—
Schweinepest-Mäuse, 66 Tg.	—	—	Schweinepest, 12 Tage	+++	+++
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	+++	++	Rotlauforgane	—	+
Muskelfleisch v. Schwein, kein Rotlauf	+++	+	dgl.	—	+
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	+++	++	„	—	++
Huhn, Hühnerpest	+++	—	„ 15 Tage	—	—
Schweinmilzbrand	+++	—	„ 18 „	—	+++
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	+++	+++	„ 15 „	++	+++
Schwein, Herz und Niere, kein Rotlauf	+	+++	„ 6 „	+	—
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	+++	+++	„ 6 „	++	+++
Schwein, Milz, Rotlauf	++	—	„ 4 „	++	++
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	++	—	„ 30 „	++	—
Schwein, Leber, Rotlauf	+	+	„ 29 „	—	+
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	++	++	„ 24 „	—	—
Rotlauf-Bouillonkultur-extrakt	++	—	„ 24 „	—	++
Schweinepest-Bouillon-kulturextrakt	+	—	„ 24 „	—	+++
Milz vom Rind, 6 Tage alt	++	+	„ 24 „	+	+++
Schwein, Milz und Niere, Rotlauf	++	+++	„ 24 „	++	+++
Schwein, Milz und Niere, kein Rotlauf	+++	+	„ 24 „	++	—
Schwein, Milz, gesund und frisch	++	+	„ 12 „	+	++

schwemmt. Diese trübe Bacillenabschwemmung, die in Ausstrichpräparaten sich außerordentlich reicher an Bacillen zeigte, als in solchen von der Bouillonkultur allein, wurde in der Steigerung bis schließlich zu 10 ccm intravenös eingespritzt. Diese große Dosis bacillenreicher Kultur vertrugen die Impftiere ausgezeichnet. Die erste Blutentnahme fand 8 Tage nach der 4. Impfung mit 1 ccm Kultur statt. Das Serum zeigte nicht die Spur

von Präzipitationsfähigkeit. Nun wurde erheblich mit der Impfdosis gesteigert. Die zweite Blutentnahme fand nach der 7. Impfung mit 4 ccm (intravenös) statt. Resultat der Präzipitationsversuche war ebenfalls negativ. Auch bei der 3. Serumprüfung nach der intravenösen Impfung von 10 ccm stark bacillenhaltiger Kulturabschwemmungen war das Ergebnis der Präzipitation negativ. Das Serum zeigte bei der Testimpfung von Mäusen sich als hochwertig. Alle Serummäuse blieben am Leben, Kontrollmäuse starben am 3. Tage. Die Präzipitationsversuche der Sera sämtlicher Kaninchen mit Rotlaufbouillonkultur-extrakt sowie Rotlauforganextrakt fielen negativ aus. Ich muß somit sagen, daß es mir nicht gelungen ist, ein so hochwertiges Serum herzustellen, wie es Ascoli mir zur Verfügung zu stellen die Güte hatte.

Schlußfolgerungen.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen fasse ich in folgenden Sätzen zusammen:

1) Meine Untersuchungen haben in Uebereinstimmung mit Seibold und Drescher ergeben, daß es bis jetzt nicht gelungen ist, das Ascolische Präzipitationsverfahren für die Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine brauchbar zu gestalten.

2) Die verwendeten Sera zeigten sich nicht hochwertig genug insofern, als bakteriologisch festgestellte Rotlauffälle durch die Präzipitation mit ihnen verschiedentlich nicht festzustellen waren. Andererseits erwiesen sie sich auch nicht als artspezifisch.

3) Die heterologen Trübungen bei der Präzipitation traten besonders bei faulem Untersuchungsmaterial auf. Diese auffällige Erscheinung läßt die praktische Verwertbarkeit der Präzipitation zur Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine fraglich erscheinen, und zwar gerade für die Fälle, in denen sie die bakteriologische Diagnose ergänzen oder gar ersetzen soll.

4) Ob es möglich sein wird, ein für die Rotlaufpräzipitation geeignetes Immuneserum herzustellen, halte ich auf Grund meiner Untersuchungen für höchst unwahrscheinlich.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Bongert für sein stets wohlwollendes Interesse an meiner Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Verbindlichen Dank schulde ich auch den Herren Assistenten aus dem Hygienischen Institut, insbesondere Herrn Dr. Windrath, der mir in liebenswürdiger Weise bei der Titerbestimmung meiner Kaninchensera behilflich war.

Literaturverzeichnis.

- 1) Kraus, R., Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestbacillenkulturen, erzeugt durch homologes Serum. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 32.)
- 2) Uhlenhuth, Weidanz u. Wedemann, Ueber Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28. 1908. H. 3.)
- 3) Wladimiroff, Ueber Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkultur. (St. Petersburg. med. Wochenschr. 1898 u. 1900. u. Kolle-Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorg.)

- 4) Pfeiler, W., Die Ermittlung der Rotzkrankheit durch die Präzipitationsmethode. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 35. 1909. p. 323—337.)
- 5) Pfeiler, W. u. Weber, G., Ueber eine neue serodiagnostische Methode. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1913. H. 25.)
- 6) Ascoli, A. u. Valenti, E., Biologische Milzbranddiagnose. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 7. 1910.)
- 7) Schütz u. Pfeiler, Der Nachweis des Milzbrandes mittels der Präzipitationsmethode. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 38. H. 3 u. 4.)
- 8) Ascoli, A., Die Thermopräzipitinreaktion als allgemein serodiagnostische Methode. Ihre Anwendung bei der Diagnose des Schweinerotlaufs. Das Thermopräzipitin-diagnostikum. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 10.)
- 9) Iwicki, M., Die Ascolische Thermopräzipitinreaktion als diagnostisches Hilfsmittel beim Rotlauf der Schweine. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 23.)
- 10) Silva, P., Die Ascolische Thermopräzipitinreaktion beim Rotlauf der Schweine. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 21.)
- 11) Rübiger, H., Protokoll des Vereins Thüringer Tierärzte. (Berlin. tierärztl. Wochenschrift. 1912. No. 32.)
- 12) Profé, Protokoll des Vereins rheinpreußischer Tierärzte. (Berlin. tierärztl. Wochenschrift. 1912. No. 43.)
- 13) Declich, M., Präzipitation bei Schweinerotlauf. (Tierärztl. Centralbl. 1912. p. 129.)
- 14) Zagaja, Schweinerotlaufdiagnose mittels der Thermopräzipitinreaktion Ascolis. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 45.)
- 15) Seibold, E., Beitrag zur Feststellung des Rotlaufs der Schweine mit Hilfe der Thermopräzipitinreaktion nach Ascoli. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 13. H. 1 u. 2.)
- 16) Isabolinsky u. Patzewitsch, Die Präzipitationsreaktion bei Schweinerotlauf. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 67. p. 284.)
- 17) Drescher, L., Die Erkennung des Rotlaufs der Schweine mittels der Präzipitationsmethode. (Mitteil. d. Kaiser Wilhelm-Institut. f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 5. H. 4.)
- 18) Gasperi, F., Ueber die Bedeutung der Thermopräzipitinreaktion nach Ascoli für die Diagnose des Milzbrandes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. p. 184.)

Nachdruck verboten.

Ist das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ ein Differentialdiagnostikum bei Typhus-Coli-ähnlichen Bakterien?

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen
(Vorstand: Prof. Dr. Kurt Wolf).]

Von Dr. Walther Frieber.

Bei der bakteriologischen Differentialdiagnose zwischen *Bacterium typhi* und *Bacterium coli* hat es früher nicht an Schwierigkeiten gefehlt. Auf diesen Umstand ist es zurückzuführen, daß lange Zeit, namentlich von französischen Forschern, die Ansicht vertreten werden konnte, daß das harmlose *Bacterium coli* sich im tierischen Organismus umwandeln und zum pathogenen *Bacterium typhi* werden könne. Bei der damals herrschenden Unsicherheit der Methoden und der ungenügenden Kenntnis der biologischen Eigenschaften beider Bakterien kann uns das nicht allzusehr wundernehmen. Wir weisen zwar heute diese Hypothese zurück und schließen die Möglichkeit, daß sich eine Bakterienart in die andere verwandeln könne, aus. Daß man aber bei *Bacterium typhi* und *coli* überhaupt an diese Möglichkeit dachte, ist ein Beweis dafür, wie nahe verwandt diese beiden Arten sein müssen.

Durch umfangreiche Untersuchungen sind ihre Merkmale festgestellt worden, und wir sind nunmehr wohl imstande, sie sicher voneinander zu trennen. Sie stellen zwei gut charakterisierte Arten dar, die sich aber

in morphologischer und kultureller Hinsicht in vielen Punkten gleichen. Zwischen ihnen nehmen die in den neunziger Jahren des vorigen Jahrhunderts bekannt gewordenen und erst im letzten Jahrzehnt genau studierten Bakterien der sogenannten Hogcholera-, Paratyphus- und Fleischvergiftungsgruppe eine Mittelstellung ein, indem sie in ihren biologischen Eigenschaften sowohl dem *Bacterium typhi* wie dem *Bacterium coli* mehr oder weniger gleich sind. Hierher rechnen: *Bacterium paratyphi* A, *Bact. paratyphi* B, *Bact. typhi murium*, *Bact. cholerae suum*, *Bact. psittacosis*, *Bact. enteritidis*, ferner die dem echten *Bacterium coli* am nächsten stehenden Paracolibakterien. Alle diese werden wohl, ehe man sie kannte, die Typhus-Coli-Diagnose häufig recht erschwert haben. Sie sind es wohl auch, die den Anlaß zu der nun als falsch erkannten und verworfenen Ansicht von der Umwandelbarkeit von Coli- in Typhusbakterien gegeben haben, zumal ja das klinische Bild der Paratyphuserkrankung häufig ähnlich ist dem des vom Eberth-Gaffkyschen *Bacterium* hervorgerufenen Abdominaltyphus.

In ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten am besten charakterisiert sind heute das *Bact. typhi*, danach die Paratyphusbakterien, weniger das *Bact. coli*.

Es ist erstaunlich, wie wenig man sich gerade über die Eigenschaften des zuletzt genannten Bakteriums einig ist. Das geht besonders aus den zahlreichen Arbeiten über die Bedeutung des *Bacterium coli* als Indikator für fäkale Verunreinigung von Wässern hervor. Es ist bisher nicht gelungen, seinen Begriff genau festzulegen. Man hat von der Summe der Kennzeichen, die das echte *Bacterium coli commune* (Escherisch) aufweisen muß, ziemlich willkürlich Abstriche gemacht, wie es gerade zu der von dem betreffenden Forscher vertretenen Ansicht über den indikatorischen Wert des Coli-Befundes am besten paßte. Meines Erachtens liegt keine Notwendigkeit vor, von den Merkmalen des *Bact. coli* eins zu streichen. Eher wird es zweckmäßig sein, die Kriterien zu erhöhen und den Begriff *Bacterium coli* noch präziser zu fassen und wenigstens die Anforderungen zu stellen, die ich weiter unten aufführe.

Was nun besonders die Bakterien der Paratyphus-Gruppe anbelangt, so zeigen sie ihre Verwandtschaft zum *Bacterium typhi* durch die auch ihnen mangelnde Fähigkeit, Indol zu bilden, sowie Laktose zu vergären; mit *Bacterium coli commune* teilen sie die Gasbildung aus Traubenzucker und die Eigenschaft, Neutralrot nach Oldekop zu reduzieren. Die Abgrenzung der Paratyphus-Gruppe von *Bact. typhi* und *Bact. coli* ist somit leicht möglich. Es ist jedoch bis jetzt nicht gelungen, die 3 Untergruppen *Bact. paratyphi* A, B und *Bact. enteritidis* durch kulturelle Merkmale so sicher zu scheiden, wie wir das auf Grund ihres serologischen Verhaltens vermögen.

Alle vorgenannten Bakterien außer dem Typhusbacillus sind imstande, Traubenzucker zu zerlegen unter Bildung von Gas, dessen beide Komponenten Wasserstoff und Kohlendioxyd in Mengen gebildet werden, deren Verhältnis für ein und denselben Stamm eine Konstante darzustellen scheint.

Sollte sich vielleicht auf Grund dieses Gasverhältnisses $H_2:CO_2$ ein Unterschied ergeben, der sich als Differentialdiagnostikum zwischen den nur agglutinatorisch zu trennenden Vertretern der Paratyphus-Gruppe einerseits, sowie als Abgrenzungsmittel dieser gegen die nahe verwandten Paracolibacillen und *Bacterium coli* andererseits verwerten ließe?

Als erster, der Abgrenzungen von Bakterienarten auf die Gaszusammensetzung gründete, ist Th. Smith (1) zu nennen. Er stellte (1893) Gasverhältniszahlen auf für *Bacterium cloacae*, *lactis aerogenes* und das hier in Betracht kommende *Bacterium coli*. In anderen Versuchen fand er später (2) (1895) bei *Hogcholerabacillen*, *Bact. enteritidis*, *Bact. typhi murium*, *lactis aerogenes*, *Bact. oedematis maligni* und *Bact. coli commune*, deren Gasverhältnisse er bestimmte, für alle den Wert $H_2 : CO_2 = 2 : 1$. Diese Versuche haben jedoch heute nur noch historisches Interesse, weil Smith, worauf ich (3) aufmerksam gemacht habe, bei seinen Untersuchungen die Gasabsorption in der Flüssigkeit nicht berücksichtigt hat.

Im Jahre 1906 hat es dann Stamm (4) unternommen, die Zusammensetzung der Gärungsgase als Differentialdiagnostikum in der Paratyphus-Coli-Gruppe heranzuziehen. Er stellte auf Grund seiner Gasbefunde eine Trennungsmöglichkeit in Abrede.

Da Stamm denselben Fehler wie Smith gemacht und ebenfalls die Gasabsorption nicht berücksichtigt hat, so kommt seinen Resultaten nur beschränkte Bedeutung zu. Es ist möglicherweise zu erwarten, daß die Nachprüfung derselben unter Zugrundelegung eines exakten Verfahrens zu anderen Ergebnissen führt.

Mit der Prüfung der Frage nach dem differentialdiagnostischen Wert des Gasverhältnisses geht Hand in Hand und ist von besonderer Wichtigkeit die Frage, ob nicht schon bei Stämmen gleicher Art Unterschiede im Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ auftreten, und wenn dies der Fall ist, in welchen Grenzen sich diese Schwankungen bewegen. Sind sie innerhalb der einzelnen Stämme beträchtlich, so hat es keinen Wert, die Frage weiter experimentell zu prüfen, da dann doch keine befriedigende Lösung zu erwarten sein dürfte.

Es sei erwähnt, daß die Literaturangaben zur Beantwortung dieser Frage als maßgebend nicht angesehen werden können. Nach Untersuchungen von Stokes (5) mit *Bacterium coli* ist das Gasverhältnis bei 547 Stämmen völlig gleich (in Glukose $H_2 : CO_2 = 2 : 1$). Von Howe (6) wurden im Gegensatz dazu für seine geprüften Stämme von *Bact. coli* (fast 400) die allergrößten Differenzen untereinander beobachtet, und nach Ergebnissen von Mendel (7) ist überhaupt schon für den gleichen Stamm das Gasverhältnis eine variable Größe. Statt Klarheit in dieser Frage bietet die Literatur nur Widersprüche.

Bei allen diesen Untersuchungen ist jedoch die Gasabsorption unberücksichtigt gelassen; es kommt ihnen daher für vorliegende Frage nicht die geringste Bedeutung zu.

Das Gasverhältnis für *Bact. coli* wird von der Mehrzahl der Untersucher zu $H_2 : CO_2 = 2 : 1$ gefunden. Von weiteren Mitteilungen sehe ich ab. Ich verweise im allgemeinen aber auf meine Zusammenstellungen in diesem Centralblatt (3). Es seien jedoch der Vollständigkeit halber hier noch die Zahlen angegeben, die ich in der Literatur für Paratyphus etc. in Glukose auffand. Es ist bei

Th. Smith (2)	$H_2 : CO_2 = 2 : 1$
Pammel (8)	$= 2 : 1$
Thaysen (9)	$= 2,2 : 1$
Stokes (5)	$= 2 : 1$

Unter besonderer Bezeichnung angegeben, bzw. nach der Agglutination unter eine der serologisch zu trennenden 3 Gruppen zu rechnen sind folgende Angaben:

	$H_2 + CO_2$ ccm	$H_2 : CO_2$
Stamm (4) Paratyphus A.		
Typ. A. Schottmüller (Král)		59,8 : 35,5 = 1,7 : 1
" " Brion-Kayser (Král)		57,6 : 33,8 = 1,7 : 1
Paratyphus B.		
Typ. B. Schottmüller (Král)		58,2 : 36,4 = 1,6 : 1
" " alt, Institut		57,3 : 36,7 = 1,6 : 1
Schmidt alt, Institut		60,8 : 35,5 = 1,7 : 1
Seemann-Schottmüller		55,2 : 36,9 = 1,5 : 1
Longcope		57,6 : 37,3 = 1,6 : 1
Morseeler Fleischvergiftung Kaensche (Král)		58,1 : 36,4 = 1,6 : 1
" " Günther (Král)		57,1 : 35,6 = 1,6 : 1
Burri-Andrejew (10).		
Paratyphus 2 (Tab. p. 327)	16,75	10,0 : 6,75 = 1,5 : 1
" 3	11,0	7,0 : 4,0 = 1,75 : 1
" 4	14,0	8,75 : 5,25 = 1,7 : 1
Paratyphus (Tab. p. 328)	8,5	6,25 : 2,25 = 2,8 : 1
" 3	8,25	6,50 : 1,75 = 3,7 : 1
" 4	10,0	7,25 : 2,75 = 2,6 : 1
Paracoli.		
Bact. paracoli gasoformans anindolicum-Kayser (Král)		58,5 : 35,7 = 1,6 : 1
Bacterium enteritidis.		
Fleischvergiftung, Rumfleth-Fischer (Král)		60,3 : 35,1 = 1,7 : 1
Bac. morbific. bovis Basenau-Kruse (Král)		60,5 : 35,9 = 1,7 : 1

Smith, Pammel, Thaysen und Stokes stimmen unter sich überein und geben das Gasverhältnis mit $H_2 : CO_2 = 2 : 1$ an, wie es in der Literatur auch meist für Bact. coli gefunden wurde. In ziemlicher Uebereinstimmung mit ihnen stellt es sich nach Stamm sowohl für Paratyphus A, B und Bact. enteritidis etwa auf $H_2 : CO_2 = 1,5 - 1,7 : 1$. Auch Burri und Andrejew finden bei ihren 3 Paratyphus B-Stämmen in der ersten Bestimmung diesen Wert; später bei der Wiederholung der Versuche sind jedoch die Zahlen für Kohlendioxyd ungünstiger geworden, nämlich $H_2 : CO_2 = 2,8 : 1$, $3,7 : 1$ und $2,6 : 1$.

Auch mit diesen Zahlen ist wenig anzufangen. Ihnen allen liegt, wie ich abermals erwähnen muß, eine fehlerhafte Methodik zugrunde. Aber vermitteltst unzulänglicher Untersuchungsverfahren konstatierte Differenzen, das sei nochmals ausdrücklich betont, lassen sich Stammes- oder Rassenunterschiede ein und derselben Art nicht beweisen; ebenso wenig darf aus Uebereinstimmung im Gasverhältnis auf Artengleichheit geschlossen werden.

Die Literaturangaben versagen also; daher ist die Nachprüfung dringend erforderlich und wünschenswert. Diese habe ich vorgenommen und möchte nun darüber berichten.

Um bei meinen diesbezüglichen Untersuchungen allzugroße, jedoch natürliche, allein in der Bakterienzelle bedingte Differenzen von vornherein möglichst auszuschließen, wurden nur solche Stämme herangezogen, deren biologische und kulturelle Eigenschaften vollkommen bekannt waren, und die hinsichtlich der geprüften Merkmale mit denen der anderen Stämme gleicher Art übereinstimmten. Ganz besonders wurde hierauf bezüglich des Bact. coli geachtet, und es sind nur solche Stämme unter diesem Namen aufgeführt, die alle weiter unten angegebenen Eigenschaften des Escherichschen Bakteriums aufwiesen.

Die von mir zur Prüfung benutzten Stämme Paratyphus entstammten teils der Sammlung des Hygienischen Instituts, zum andern Teil verdanke ich sie dem Pathologischen Institut Tübingen sowie den Hygienischen Instituten zu Dresden, Erlangen, Gießen und Jena.

Im ganzen standen mir zur Verfügung 52 Stämme: 7 Paratyphus A, 22 Paratyphus B (darunter einer als *Bact. typhi murium* bezeichnet), 4 Enteritidis Gärtner, 3 Paracoli und 16 *Bact. coli commune*. Von dieser letztgenannten Art wurden einige Stämme im vergangenen Frühjahr aus Faeces isoliert, 3 vom Menschen, 2 vom Hund und 1 vom Kaninchen. Die übrigen sind Laboratoriumskulturen.

Die kulturellen Eigenschaften waren folgende:

Alle 52 Stämme stellten nach Gram nicht färbbare, sporenlose, typische Stäbchen mit Eigenbewegung dar. Gelatine wurde nicht verflüssigt, Traubenzucker unter Gasbildung vergoren, Neutralrotagar nach Oldekop wurde unter gelber Fluoreszenz und Gasbildung reduziert.

Von ihnen zeigten die Paratyphus- und Enteritidis-Stämme auf Drigalski-Agar blaue, auf Endo-Agar weiße Kolonien. Indol wurde von keinem dieser 33 Stämme gebildet. Zum Nachweis diente mir, das sei ausdrücklich hervorgehoben, die unlängst von Zipfel (11) angegebene Tryptophanlösung. Sie gibt, wie ich mich überzeugte, stets eindeutige Resultate, stellt gegenüber dem Peptonwasser einen großen Fortschritt dar und ist deshalb sehr zu empfehlen.

Die Coli-Stämme bildeten sämtlich stark Indol. Sie wuchsen auf Drigalski-Agar rot, ebenso auf dem von Endo, hier teils mit, teils ohne Metallglanz. Diesem dürfte aber wohl keine Bedeutung beizulegen sein. Milch wurde von ihnen koaguliert.

Von den 3 als Paracoli aufgeführten Stämmen verhielten sich 2 auf Drigalski- und Endo-Agar wie Paratyphus, sie bildeten jedoch stark Indol. Der dritte Stamm machte dagegen nur in der Indolbildung eine Ausnahme, verhielt sich im übrigen gleich den andern wie *Bact. coli commune*.

Mit diesen Stämmen ermittelte ich die Zusammensetzung der aus Glukose gebildeten Gase, und zwar nach der von mir angegebenen Zuckeragarröhrchen-Methode, bei der die absorbierten Gase durch Auskochen über Quecksilber ausgetrieben werden (3, 12, 13).

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen (1—5) aufgeführt.

Tabelle 1.
Bacterium paratyphi A.

	$H_2 + CO_2$ ccm	H_2 ccm	CO_2 ccm	$H_2 : CO_2$
A ₁ a Hyg. Inst. Tübingen	13,7	7,9	5,8	1:0,74
b*	17,8	10,2	7,6	1:0,74
A ₂ a Pathol. Inst. Tübingen	20,7	12,0	8,7	1:0,72
b*	20,2	11,7	8,5	1:0,73
A ₃ a Pathol. Inst. Tübingen	25,1	13,9	11,2	1:0,80
b	21,4	11,9	9,5	1:0,80
A ₄ a Erlangen (A 120)	23,4	12,8	10,6	1:0,83
b*	14,5	7,9	6,6	1:0,84
c*	13,8	7,6	6,2	1:0,82
A ₅ a Gießen	13,4	7,4	6,0	1:0,80
A ₆ a Gießen-München	16,5	9,4	7,2	1:0,76
A ₇ a Jena	20,0	10,7	9,3	1:0,87
b*	13,7	7,3	6,4	1:0,88

$H_2 : CO_2$ Mittel = 1:0,80

Die mit einem * bezeichneten Versuche wurden einige Wochen später angesetzt.

Tabelle 2.
Bacterium paratyphi B.

	$H_2 + CO_2$ ccm	H_2 ccm	CO_2 ccm	$H : CO_2$
B ¹ a Hyg. Inst. Tübingen	16,3	9,5	6,8	1 : 0,72
b " " "	17,4	10,0	7,4	1 : 0,74
B ₂ a Hyg. Inst. Tübingen	14,4	7,9	6,5	1 : 0,81
b " " "	13,8	7,6	6,2	1 : 0,82
B ₃ a Hyg. Inst. Tübingen	16,2	9,0	7,2	1 : 0,80
b " " "	18,2	10,0	8,2	1 : 0,82
B ₄ a Hyg. Inst. Tübingen	15,7	8,6	7,1	1 : 0,83
b " " "	17,7	9,9	7,8	1 : 0,79
B ₅ a Hyg. Inst. Tübingen	15,3	8,7	6,6	1 : 0,76
b " " "	14,7	8,4	6,3	1 : 0,75
B ₆ a Hyg. Inst. Tübingen (Hünemann)	19,3	10,3	9,0	1 : 0,87
b " " "	15,4	8,2	7,2	1 : 0,88
B ₇ a Hyg. Inst. Tübingen (Korte)	16,3	9,1	7,2	1 : 0,79
B ₈ a Hyg. Inst. Tübingen (B 63)	15,0	8,3	6,7	1 : 0,81
b " " "	17,5	9,8	7,7	1 : 0,79
B ₉ a Path. Inst. Tübingen	17,1	9,0	8,1	1 : 0,90
b " " "	19,2	10,0	9,2	1 : 0,92
B ₁₀ a Hyg. Inst. Tübingen (B. Berlin)	19,2	10,4	8,8	1 : 0,85
b " " "	16,2	8,7	7,5	1 : 0,86
B ₁₁ a Hyg. Inst. Tübingen (Ar.)	16,3	9,0	7,3	1 : 0,81
b " " "	18,4	10,0	8,4	1 : 0,84
B ₁₂ a Hyg. Inst. Tübingen (Lange)	22,0	11,0	11,0	1 : 1,00
b " " "	19,6	9,9	9,7	1 : 0,98
B ₁₃ a Hyg. Inst. Tübingen (Para 68)	19,8	10,7	9,1	1 : 0,85
b " " "	16,6	8,9	7,7	1 : 0,87
B ₁₄ a Erlangen (240) "	20,6	10,7	9,9	1 : 0,92
B ₁₅ a Gießen	21,0	11,4	9,6	1 : 0,84
b " " "	21,8	11,8	10,0	1 : 0,85
B ₁₆ a Gießen (München)	16,1	9,0	7,1	1 : 0,79
b " " "	14,8	8,4	6,4	1 : 0,76
B ₁₇ a Gießen (Berlin)	14,5	7,8	6,7	1 : 0,86
b " " "	16,1	8,8	7,3	1 : 0,83
B ₁₈ a Jena (B. I. 1 : 5000)	12,7	6,8	5,9	1 : 0,87
b " " "	12,5	6,9	5,6	1 : 0,84
B ₁₉ a Jena (B. II. 1 : 5000)	17,8	9,8	8,0	1 : 0,82
b " " "	16,9	9,2	7,7	1 : 0,84
B ₂₀ a Jena (Berlin B. 1 : 100)	18,2	10,5	7,7	1 : 0,73
b " " "	15,1	8,7	6,4	1 : 0,74
B ₂₁ a Hyg. Inst. Tübingen (130 E)	11,4	5,9	5,5	1 : 0,93
B ₂₂ a Typhi murium, Tübingen	20,3	11,6	8,7	1 : 0,75
b " " "	17,9	10,3	7,6	1 : 0,74

 $H_2 : CO_2$ Mittel = 1 : 0,84Tabelle 3.
Bacterium enteritidis (Gärtner).

	$H_2 + CO_2$ ccm	H_2 ccm	CO_2 ccm	$H : CO_2$
G ₁ a Hyg. Inst. Tübingen	16,1	9,2	6,9	1 : 0,75
b " " "	18,3	10,6	7,7	1 : 0,74
G ₂ a Erlangen (168) "	19,2	11,1	8,1	1 : 0,73
b " " "	18,2	10,4	7,8	1 : 0,75
G ₃ a Path. Inst. Tübingen	19,2	11,0	8,2	1 : 0,75
G ₄ a Jena (Gärtner 1 : 7000)	16,6	9,2	7,4	1 : 0,80

 $H_2 : CO_2$ Mittel = 1 : 0,76

Tabelle 4.
Bacterium paracoli.

	H ₂ + CO ₂ ccm	H ₂ ccm	CO ₂ ccm	H : CO ₂
P. C ₁ a Hyg. Inst. Tübingen	15,0	8,1	6,9	1:0,85
b* " " "	17,5	9,5	8,0	1:0,84
c* " " "	16,9	9,1	7,8	1:0,86
P. C ₂ a Hyg. Inst. Tübingen (Schwäbisch Gmünd)	18,4	10,3	8,1	1:0,79
b* Hyg. Inst. Tübingen	14,5	8,0	6,5	1:0,81
P. C ₃ a Dresden (6077)	14,5	8,2	6,3	1:0,77
b " "	18,7	10,5	8,2	1:0,78

H₂ : CO₂ Mittel = 1:0,80Tabelle 5.
Bacterium coli commune.

	H ₂ + CO ₂ ccm	H ₂ ccm	CO ₂ ccm	H ₂ : CO ₂
C ₁ a (Phlegmone) Tübingen	20,3	11,5	8,8	1:0,76
b " " "	16,4	9,4	7,0	1:0,74
C ₂ a Hyg. Inst. Tübingen (87)	18,0	10,1	7,9	1:0,78
b " " "	18,7	10,5	8,2	1:0,78
C ₃ a Mensch (Schm.)	19,8	10,8	9,0	1:0,83
b " " "	15,6	8,5	7,1	1:0,84
C ₄ a Hyg. Inst. Tübingen (Bü.)	19,8	10,4	9,4	1:0,90
C ₅ a Mensch (Fr.)	12,9	7,3	5,6	1:0,77
b " " "	15,0	8,5	6,5	1:0,76
C ₆ a Hyg. Inst. Tübingen (107)	18,0	10,4	7,6	1:0,74
b* (10 Proz. Glukose)	16,8	9,5	7,3	1:0,77
C ₇ a Dresden (E. I)	16,2	9,4	6,8	1:0,73
b " " "	17,6	9,8	7,8	1:0,79
C ₈ a Dresden (E. II)	16,8	9,2	7,6	1:0,83
b " " "	17,2	9,3	7,9	1:0,85
C ₉ a Dresden (6076)	19,6	8,5	11,1	1:1,30
b " " "	18,7	8,2	10,5	1:1,28
C ₁₀ a Mensch (St.)	13,5	6,9	6,6	1:0,95
b " " "	13,9	7,1	6,8	1:0,96
C ₁₁ a Dresden (7759)	12,7	6,6	6,1	1:0,92
b " " "	15,5	8,1	7,4	1:0,91
C ₁₂ a Path. Inst. Tübingen (11)	19,9	10,0	9,9	1:0,99
C ₁₃ a Path. Inst. Tübingen (13)	17,7	9,2	8,5	1:0,92
C ₁₄ a Kaninchen	15,2	8,3	6,9	1:0,83
C ₁₅ a Hund (St.)	15,8	8,6	7,2	1:0,84
b " " "	20,4	11,2	9,2	1:0,82
C ₁₆ a Hund (D.)	15,4	8,4	7,0	1:0,83

H₂ : CO₂ Mittel = 1:0,87

Aus diesen Zusammenstellungen ergeben sich mehrere interessante Tatsachen. Betrachten wir die Verhältniszahlen H₂ : CO₂ zunächst nur für alle immer in einer Tabelle vereinigten Stämme gleicher Art, so fällt die große Regelmäßigkeit und ziemliche Uebereinstimmung auf. Daraus können wir als erste Tatsache konstatieren:

1) Das Gasverhältnis H₂ : CO₂ ist bei allen untersuchten Stämmen verschiedener Herkunft jedoch gleicher Art eine ziemlich konstante Größe. Schwankungen innerhalb einzelner Stämme treten auf, bewegen sich aber in engen Grenzen.

Bei der Gegenüberstellung der verschiedenen Arten ergibt sich folgendes anschauliche Bild (Tabelle 6):

Tabelle 6.

Das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ ist für:				
Bacterium	Zahl der geprüften Stämme	$H_2:CO_2$ im Mittel	Grenzen	
			von	bis
Paratyphi A	7	1:0,80	1:0,72	1:0,88
" B	22	1:0,84	1:0,72	1:1
Enteritidis	4	1:0,76	1:0,73	1:0,80
Paracoli	3	1:0,80	1:0,77	1:0,86
Coli commune	16	1:0,87	1:0,73	1:1 (1mal 1:1,3)

Im Mittel für 52 Stämme = 1:0,81

Hieraus ergibt sich als zweite Tatsache:

2) Das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ nimmt für alle geprüften Arten (Paratyphus A, B, Enteritidis, Paracoli und Coli commune) einen Wert an, der annähernd bei 1 liegt, d. h. es werden fast gleiche Volumina beider Gase, Wasserstoff und Kohlendioxyd, gebildet.

Die äußersten beobachteten Schwankungen liegen in den Grenzen $H_2:CO_2 = 1:0,72$ bis $1:1,30$.

Somit folgt als dritte Tatsache und als Antwort auf die im Thema gestellte Frage:

3) Auf Grund vorliegender Untersuchungen kann das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ für Paratyphus A und B, Enteritidis, Paracoli und Coli commune als Artcharakteristikum nicht herangezogen werden. Es bildet kein diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung und Scheidung der untereinander so nahe verwandten Typhus-Coli-ähnlichen Bakterien.

Es ist wünschenswert und bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, nunmehr alle gasbildenden Bakterien in dieser Weise zu prüfen. Danach wird es sich zeigen, welche Bedeutung dem Gasverhältnis $H_2:CO_2$ zur Trennung anderer Arten, z. B. von Bact. acidilactici (lactis aërogenes), Bact. pneumoniae, Bact. vulgare (Proteus vulgaris), Bact. cloacae, Bact. phosphorescens u. a. zukommt.

Literatur.

- 1) Smith, Th., The Fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 14. 1893. p. 864.)
- 2) —, Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1895. p. 1.)
- 3) Frieber, W., Die Bedeutung der Gasabsorption in der Bakteriologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 437.)
- 4) Stamm, J., Ueber die Bedeutung des von einigen pathogenen Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe unter anaëroben Bedingungen produzierten Gases für die Differentialdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 590.)
- 5) Stokes, R., A simple test for the routine detection of the Colon Bacillus in drinking water. (The Journ. of Infect. Dis. Vol. 1. 1904. p. 341.)
- 6) Howe, Fr. jr., Notes on the Bacillus coli. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 484.)
- 7) Mendel, Joh., Ueber Umsetzung verschiedener Zuckerarten durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 29. 1911. p. 289.)
- 8) Pammel, L. u. E., A contribution on the gases produced by certain bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. p. 633.)
- 9) Thaysen, A. C., Funktionelle Anpassung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 1.)

- 10) Burri u. Andrejew, P., Vergleichende Untersuchung einiger Coli- und Paratyphusstämmen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 217.)
- 11) Zipfel, H., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Indolreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 572.)
- 12) Fieber, W., Eine Modifikation der Untersuchungsmethode von Gärungsgasen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 36. 1913. p. 438.)
- 13) —, Ueber Bakteriengärungen und ihre gesamte Methodik. [Diss.] Tübingen 1913.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Konservierung der roten Hammelblutkörperchen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky.**

Im Jahre 1911 veröffentlichten Armand-Delille und Lannoy die Resultate ihrer Versuche über die Wirkung des Formols als Konservierungsmittel der roten Blutkörperchen. Zu sorgfältig gewaschenen roten Hammel- und Pferdeblutkörperchen fügten sie verschiedene Konzentrationen des Formols von 0,5:100 bis 2:1000 hinzu und ließen bei Zimmertemperatur während 15 Tage stehen. Es hat sich herausgestellt, daß sogar bei einer Verdünnung des Formols von 2:1000 die roten Blutkörperchen gut konserviert werden, ohne irgendwelche morphologischen oder physikalischen Veränderungen zu erleiden. Die Resistenz solcher formalinisierten Blutkörperchen verändert sich gar nicht in bezug auf die physiologische Kochsalzlösung.

In dieser Richtung haben wir noch eine Arbeit von v. Eisler, der das Formol auch als Konservierungsmittel für die roten Blutkörperchen benutzte. Zu einer 5-proz. Aufschwemmung von roten Hammelblutkörperchen fügte er Formollösung in einer Verdünnung von 2:1000 hinzu. Ein Teil der roten Blutkörperchen blieb bei 28–30° bei Licht, ein anderer Teil im Dunkeln. Es hat sich kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Blutkörperchenportionen herausgestellt. Im Laufe der ersten 24 Stunden beobachtete v. Eisler keine Veränderungen der Blutkörperchen; nach 24 Stunden konnte man aber eine leichte Verfärbung der oberen Flüssigkeit in Rosafarbe und Bildung von Methämoglobin beobachten. Bei einer Temperatur von 22° beobachtete man die oben beschriebenen Veränderungen erst nach 4 Tagen, bei Eisschranktemperatur nach 6 Tagen. In den Kontrollröhrchen ohne Formolzusatz traten diese Veränderungen viel schneller auf. Diese Versuche von v. Eisler haben die konservierende Wirkung des Formols auf die roten Blutkörperchen festgestellt.

Die große praktische Wichtigkeit dieser Beobachtungen veranlaßte mich, weitere Versuche in dieser Richtung anzustellen, wobei gleichzeitig mit Formol auch Toluol allein und in Verbindung mit Formol als Konservierungsmittel geprüft wurden.

Gut gewaschenen roten Hammelblutkörperchen wurde eine Toluolschicht hinzugefügt und dieses Gemenge auf Eis gestellt. Täglich beobachtete ich, ob irgendwelche makroskopische Veränderungen in den roten Blutkörperchen vor sich gingen. Im Laufe von 4–5 Tagen waren keine Veränderungen zu beobachten; die Blutkörperchen senkten sich

auf den Boden, die oberste Schicht blieb leicht rosa verfärbt. Vom 4.—5. Tage an begann eine teilweise Autolyse der roten Blutkörperchen, die am 8.—9. Tage ganz bedeutend wurde. Die am Boden gebliebenen Blutkörperchen scheinen im Agglutinationszustande sich zu befinden, die Farbe wird viel dunkler und nimmt einen violetten Ton an.

Sobald die beginnende Autolyse zu beobachten war, d. h. am 4.—5. Tage, wurde das Toluol sorgfältig entfernt und aus den Blutkörperchen eine 5-proz. Aufschwemmung zur Versuchsanstellung vorbereitet. Schon bei der Bereitung dieser Aufschwemmung auf physiologischer Kochsalzlösung trat ex tempore eine völlige Hämolyse ein. Dies überzeugte mich, daß das Toluol zur Konservierung der roten Blutkörperchen unbrauchbar ist, da es eine schädliche Wirkung auf die roten Blutkörperchen ausübt, indem es die letzteren resistenzunfähig macht.

Die Konservierungsversuche der roten Blutkörperchen im Formol gaben dagegen ganz günstige Resultate. Zur Versuchsanstellung gebrauchte ich 2-proz. Formollösung. Zu je 1 ccm der gut gewaschenen Hammelblutkörperchen fügte ich 0,1, 0,2 und 0,3 ccm 2-proz. Formollösung hinzu und stellte die Versuchsröhrchen mit diesem Gemenge auf Eis. Täglich wurden die Beobachtungsergebnisse notiert. In den Röhrchen mit 0,1 ccm 2-proz. Formollösung wurden keine sichtbaren Veränderungen bis zum 25. Tage beobachtet, erst von diesem Tage an trat eine teilweise Autolyse auf. Die am 30. Tage bereitete 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung erwies sich vollständig zur Versuchsanstellung brauchbar. Allein für sich ergab diese Aufschwemmung keine Hämolyse, und erst bei Hinzufügung von 1 ccm frisch titrierten Komplements begann nach 20—25 Minuten bei 37° die Hämolyse. In Röhrchen mit 0,2 ccm einer 2-proz. Formollösung konnten schon nach 6 Tagen eine beginnende Autolyse und ein violetter Ton der oberen Flüssigkeitsschicht beobachtet werden; die 5-proz. Aufschwemmung solcher Blutkörperchen zeigte sich noch am 9.—10. Tage zur Versuchsanstellung brauchbar. In Röhrchen mit 0,3 ccm der 2-proz. Formollösung konnten schon am 2.—3. Tage ausgeprägte Veränderungen beobachtet werden, nämlich bedeutende Autolyse, ein deutlich violetter Ton und endlich völlige Auflösung der roten Blutkörperchen. Es muß bemerkt werden, daß in den Kontrollröhrchen ohne Formol am 2.—3. Tage dieselben Erscheinungen beobachtet wurden; solches Blut erwies sich zur Versuchsanstellung als unbrauchbar. Diese Beobachtungen zeigten, daß das Hinzufügen von 0,1 ccm 2-proz. Formollösung zu je 1 ccm gewaschener roter Hammelblutkörperchen imstande ist, dieselben während 25—30 Tagen zu konservieren, ohne die Resistenzfähigkeit und Brauchbarkeit zur Komplementbindungsreaktion zu stören.

Die Versuche der Konservierung mit Toluol und Formol zusammen ergaben auch ungünstige Resultate, da schon am 4. Tage Veränderungen, ähnlich den oben mit Toluol allein beschriebenen, beobachtet wurden, d. h. schnell auftretende Autolyse, Verklebung der Blutkörperchen und eine bedeutende Violettfärbung der oberen Flüssigkeitsschicht.

Nach den oben beschriebenen Versuchen untersuchte ich die konservierende Wirkung des Formols auf sensibilisierte Hammelblutkörperchen. Zu diesem Zwecke wurden 50 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung frisch gewaschener roter Blutkörperchen mit einer entsprechenden Menge von hämolytischen Kaninchenambozeptoren bereitet und diesem Gemenge 5 ccm einer 2-proz. Formollösung hinzugefügt. Dieses Gemisch blieb auf Eis und wurde von Zeit zu Zeit auf seine Aktivität mit und ohne

Komplement geprüft. Es hat sich dabei herausgestellt, daß ein solches Gemisch noch nach 28 Tagen ganz brauchbar war. Nach dem 28. Tage veränderte es etwas seine Farbe, indem es einen violetten Ton annahm.

Die Resultate, die ich mit diesem Gemische als Indikator bei einer ganzen Reihe von syphilitischen und nicht-syphilitischen Seris bekommen habe, entsprachen vollständig denjenigen in den Parallelversuchen mit frisch bereiteten sensibilisierten Blutkörperchen.

Diese Beobachtung hat meiner Meinung nach großen praktischen Wert, da sie uns die Möglichkeit gibt, die sensibilisierten Blutkörperchen in Formol, ohne jeden Schaden für dieselben und ohne irgendwelche Wirkung auf die Komplementbindungsreaktion, aufzubewahren; sie erleichtert auch kleineren Laboratorien die Aufbewahrung von Hammelblut, das sie oft auf Schlachthöfen und aus größeren Laboratorien bekommen.

Ich bin weit davon entfernt, die Ersetzung der frischen Hammelblutkörperchen durch die in Formol konservierten zu empfehlen, sondern will nur die Resultate meiner Beobachtungen, die es in gewissen dringenden Fällen ermöglichen, solche konservierte Blutkörperchen ohne Schaden für das Resultat der Komplementbindungsreaktion zu benutzen, mitteilen.

Berichtigung.

Auf Seite 197 des 71. Bandes zwischen Zeilen 37 und 38 ist der Satz in folgender Weise zu ergänzen:

„und ich konnte keine der Angaben über die parasitäre Natur der Körper-“

Inhalt.

Busch, Ueber serumfeste Ruhrstämmen, p. 515.

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über halbspezifische Desinfektionsvorgänge, p. 420.

Frieber, Walther, Ist das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ ein Differentialdiagnostikum bei Typhus-Coli-ähnlichen Bakterien? p. 534.

Isabolinsky, M., Zur Frage über die Konservierung der roten Hammelblutkörperchen, p. 542.

Isabolinsky, M. u. Legeiko, W., Zur Frage über die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach, p. 521.

Iwicki, Michael, Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Präzipitation zur Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine, p. 523.

Kuenen, W. A. u. Swellengrebel, N. H., Die Entamoeben des Menschen und ihre praktische Bedeutung, p. 378.

Lautenbach, Berend Broer, Zur Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens der Stuten, p. 349.

Natonek, Desider, Zur Kenntnis der Dysenteriebacillen, p. 337.

Schultz, Nadine, Ein Fall von menschlicher Filaria-Infektion, p. 410.

Shimidsu, K., Ueber die Morphologie des Bact. coli, B. typhi abdominalis und der anderen gramnegativen Bacillen, p. 338.

Venulet, F. u. Padlewski, L., Ueber einen neuen während einer Froschepizootie gezüchteten Bacillus, p. 343.

Walsch, Ludwig, Ueber einen säurefeste Substanz bildenden Bacillus der Subtilis-Gruppe, p. 503.

Wwedensky, K. K., Zur Frage der Komplementbindung bei Tuberkulose, p. 511.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 71. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 71 enthaltenen Arbeiten.

- Ascoli, Alberto**, Zum vorläufigen Berichte von Dr. Guido Finzi „Ueber die Spezifität und über den diagnostischen Wert der „Thermopräzipitinreaktion“ von Ascoli bei der Erkennung des hämatischen Karbunkels und des Rotlaufs“. 85
- Baerthlein**, Ueber die Mutation bei Bakterien und die Technik zum Nachweis dieser Abspaltungsvorgänge. 1
- Bampton, J. H.**, Ueber *Violaceus* und *Membranaceus amethystinus*. 129
- Battaglia, Mario**, Einige durch Trypanosomiasis Dromedarii erzeugte Läsionen. 182
- Bertarelli, E. und Tedeschi, A.**, Können bei Behandlung mit Alkaloiden mit Hilfe des Ablenkungsverfahrens wahrnehmbare Antikörper erhalten werden? 225
- und **Melli, C.**, Experimentelle Untersuchungen über die Pseudolyssa. 286
- Bierotte**, Ein einfacher Ratten- und Mäusehalter. 254
- Bongartz, Theodor**, Ueber Ludwig Bitters Chinablau-nährböden zur Typhusdiagnose. 228
- Buermann, Andreas W.**, Ueber aerobe Mikroorganismen im Psalter und Colon beim Rinde. 291
- Busch**, Ueber serumfeste Ruhrstämmen. 515
- Carpano, Matteo**, Beitrag zur Kenntnis des *B. mallei*. Morphologisches und Biologisches. 267
- Dudtschenko, J. S.**, Besondere Arten von Eosinophilie im Blute einiger Vögel. 323
- Eisenberg, Philipp**, Untersuchungen über halbspezifische Desinfektionsvorgänge. I. Mitteilung. Ueber die Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien. Vitalfärbung — Entwicklungshemmung. 420
- Fischer, Adolf**, Nachuntersuchungen von Paratyphus-Bakterienträgerinnen. 13
- Frieber, Walther**, Ist das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ ein Differentialdiagnostikum bei Typhus-Coli-ähnlichen Bakterien? 534
- de Gasperi, F. und Sangiorgi, G.**, Die „Meerschweinchenpest“, eine durch filtrierbares Virus hervorgerufene Meerschweinchenseuche. 257
- Guladse, J.**, Die Wassermannsche Reaktion in der pathologischen Anatomie. Vorläufige Mitteilung. 329
- Hölzel, Eduard**, Beiträge zur Züchtung, Isolierung und Desinfektion des Rauschbrandbacillus. 147
- Hofer, Gustav und Hovorka, Jaroslav**, Versuche zur elektiven Ausgestaltung des Dieudonné'schen Choleranährbodens. 103
- Hovorka, Jaroslav s. Hofer, Gustav.**
- Hüne s. Seiffert.**
- Isabolinsky, M. und Legeiko, W.**, Zur Frage über die Komplementbindungsreaktion bei Scharlach. 520
- Zur Frage über die Konservierung der roten Hammelblutkörperchen. 542
- Ishiwara, K.**, Ueber die Meistagminreaktion beim experimentell erzeugten Sarkom (Ratten). 80
- Iwicki, Michael**, Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Präzipitation zur Feststellung des Stäbchenrotlaufs der Schweine. 523
- Kossel, H.**, Berichtigung zu Bertarelli „Der Rindertuberkulosebacillus in den tuberkulösen Veränderungen und die Beziehung der Rindertuberkulose zur menschlichen Tuberkulose“. 42
- Kronberger, Hans**, Zur Färbungsanalytik und Biochemie einiger wichtiger Bakterienarten. 240
- Kühl, Hugo**, Eine Methode zur Bestimmung der Desinfektionskraft. 331
- Kuenen, W. A. und Swellengrebel, N. H.**, Die Entamoeben des Menschen und ihre praktische Bedeutung. 378
- Lautenbach, Berend Broer**, Zur Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens der Stuten. 349
- Legeiko, W. s. Isabolinsky, M.**
- Marrassini, Alberto**, Ueber das Vorhandensein einer den Körper einiger Bakterien umgebenden Hülle und deren besondere Bedeutung. 113
- Melli, C. s. Bertarelli, E.**
- Miyaji, S.**, Zur Frage nach der Natur der Kurloffschen Körperchen. 189
- Moldovan, J.**, Beitrag zur Entwicklung des Leucocytozoon Ziemanni (Laveran). 66
- Nägler, Kurt**, Experimentelle Studien über die Passage von Schizotrypanum Cruzi Chagas durch einheimische Tiere. Teil I. 202
- Natonek, Desider**, Zur Kenntnis der Dysenteriebacillen. 337
- Padlewski s. Venulet, F.**
- Piras, L.**, Die Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Pest. 69
- Pricolo, Antonio**, Sur la filaire hématique du chameau. 199

Erste Abt. Orig. Bd. 71.

Heft 8.

35

- Pricolo, Antonio**, Strongle capillaire du chameau. 201
von Rätz, Stephan, Trichomonas aus der Leber der Tauben. 184
Rhodovi, Georg, Ueber Conradis elektive Ausschüttelung der Diphtheriebakterien mit Kohlenwasserstoffen. 233
Rullmann, W., Rückblicke auf die milchhygienischen Forschungen der letzten zwölf Jahre. 165
Sangiorgi, G. s. de Gasperi, F.
Saul, E., Beziehungen der Helminthen und Acari zur Geschwulstetiologie. XVII. Mitteilung. 59
Schoettle, Fritz, Weitere experimentelle Beiträge zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbacillen. 44
Schultz, Nadine, Ein Fall von menschlicher Filaria-Infektion. 410
Seiffert und Hüne, Gewinnung keimfreier Lymphe durch Zusatz von Chinosol. 86
Shimidsu, K., Ueber die Morphologie des Bact. coli, B. typhi abdominalis und der anderen gramnegativen Bacillen. 338
Smyth, Henry Field, Action of Bacteria on colored Media. 319
Swellengrebel, N. H. s. Kuenen, W. A.
Tedeschi, A. s. Bertarelli, E.
Venulet, F. und Padlewski, L., Ueber einen neuen während einer Frosch-epizootie gezüchteten Bacillus. 343
Waelseh, Ludwig, Ueber einen säurefeste Substanz bildenden Bacillus der Subtilis-Gruppe. 503
Wagner, Gerhard, Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen. 25
Weil, E., Untersuchungen über die Antigene der antibakteriellen Schutzstoffe. 207
Willich, Carl Theodor, Werden Kaninchen durch Injektionen von Formaldehyd gegen nachfolgende Infektion mit Milzbrand geschützt? 327
Wwedensky, K. K., Zur Frage von der Komplementbindung bei Tuberkulose. 511

II. Sachverzeichnis.

- Abort s. Verwerfen.
 Acari und Geschwulstetiologie. 59. 64
 Adler, Eosinophilie. 323
 Agglutination des Bac. membranaceus amethystinus. 142
 — des Bac. paratyphi. 30
 — des Bac. paratyphi, gaslosen. 30
 — eines Bacillus der Subtilis-Gruppe 506
 — des Bac. typhi. 30
 — des Bac. violaceus. 142
 Aggressive. 207
 Alkaloide als Antigene. 225
 —, Komplementbindung. 225
 Amöben s. a. Entamoeben.
 —, Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen. 399
 — -Ruhr. 384
 — -Ruhr, Diagnose. 396
 — -Ruhr, Verbreitung durch Fliegen. 402
 Anatomie, patholog., Wassermannsche Reaktion in derselb. 329
 Anilinfarbstoffe, Desinfektionswirkung. 486
 —, Toxizität. 427
 —, Wirkung auf Bakterien. 420, 457
 Antigene der antibakteriellen Schutzstoffe. 207
 Antikörper, Bildung durch Alkaloide. 225
 Auge, Hornhautentzündung, durch Trypan. dromedarii verurs. 184
 Aujeszky's Krankheit s. Pseudolyssa.
 Auswurf, tuberkulöser, Desinfektion mit Phobrol. 332
 Bacillus anthracis, Hülle. 118
 — —, Toxinbildung. 44
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 Bacillus anthracis, Wirkung von Chinosol. 94
 — capsulatus, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — chauvoei s. Bacillus Rauschbrand-
 — cohaerens, Färbung. 243
 — coli, Differentialdiagnose von Bac. typhi durch das Verhältnis $H_2 : CO_2$. 534
 — —, Färbung 224
 — coli-Gruppe, Vorkommen im Psalter und Colen der Rinder. 303
 — coli, Morphol. 338
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — D, Ursache des seuchenhaften Verwerfens der Stuten. 357
 — diphtheriae, Ausschüttelung mit Kohlenwasserstoffen. 233
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, Wirkung von Chinosol. 94. 97. 98
 — diphtheriae, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — dysenteriae, Serumfestigkeit. 515
 — —, Verhalten auf verschied. Nährböden. 337
 — enteritidis, Differentialdiagnose. 537
 — fluorescens liquefaciens, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — — non-liquefaciens, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — intestini n. sp., Vorkommen im Colon der Rinder. 309
 — lactis aerogenes, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320

- Bacillus mallei*, Kapsel. 276
 — —, Kulturelles. 268
 — —, Morphologie. 272
 — —, Sporenformen. 277
 — —, Systematisches. 282
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 491
 — —, Wirkung von Chinosol. 95
 — membranaceus amethystinus, Agglutination. 142
 — — —, Komplementbindung. 145
 — — —, Kulturelles. 135
 — — —, Morphologisches. 135
 — — —, Präzipitation. 144
 — mesentericus-Gruppe, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 302
 — paracoli, Differentialdiagnose. 537
 — paratyphi, Agglutination. 30
 — — B-Trägerinnen, Nachuntersuchungen. 13
 — —, Differentialdiagnose. 537
 — —, Farbstoffentfärbung. 35
 — —, Gasbildung. 32
 — — ohne Gasbildungsvermögen. 25
 — —, gasloser, Agglutination. 30
 — — —, Farbstoffentfärbung. 35
 — — —, Kulturelles. 29
 — — —, Mutation. 36
 — — —, Pathogenität. 31
 — — —, Säurebildung. 32
 — — —, Wallbildung. 40
 — — —, Kulturelles. 29
 — — —, Mutation. 36
 — — —, Pathogenität. 31
 — — —, Säurebildung. 32
 — —, gleichzeitiges Vorkommen mit *Bac. typhi*. 26
 — —, Wallbildung. 40
 — —, Wirkung von Chinosol. 97
 — —, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — parvus (Meyer et Neide) ähnliche Bakterien, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 301
 — pestis s. a. Pest. 94
 — —, Wirkung von Chinosol. 94
 — pneumoniae, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 458
 — prodigiosus, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — proteus s. Proteus
 — pseudodiphtheriae, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — pyocyaneus, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, Rauschbrand-, Isolierung. 151
 — —, Kultur. 147
 — —, Wirkung von Desinfizienten. 155
 — —, Wirkung von Lauge. 157
 — —, Wirkung von Sublimat. 155
 — rhinoscleromatis, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — sarcophysematos bovis s. *Bacillus*, Rauschbrand-.
Bacillus septicaemiae ranarum n. sp., Froschepizootie, Ursache ders. 343
 — — — —, Kulturelles. 344
 — — — —, Morphol. 345
 — — — —, Pathogenität für Kalt- und Warmblüter. 346
 — — — —, Toxinbildung. 346
 — der Subtilis-Gruppe, Agglutinationsversuche. 506
 — — —, Bildung von säurefester Substanz. 503
 — — —, Komplementbindung. 508
 — — —, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 302
 — subtilis, Hülle. 119
 — —, Wirkung von Chinosol. 95
 — tuberculosis s. a. Tuberkulose. 247
 — —, Färbung. 247
 — — der Rinder in tuberkulösen Veränderungen. 42
 — —, Wirkung von Phobrol. 333
 — typhi s. a. Typhus abdominalis. 30
 — —, Agglutination. 30
 — —, Differentialdiagnose von *Bac. coli* durch das Verhältnis $H_2:CO_2$. 534
 — —, Farbstoffentfärbung. 35
 — —, Gasbildung. 32
 — — -Gruppe, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 303
 — —, Hülle. 116
 — —, Kulturelles. 29
 — —, Morphologie. 338
 — —, Mutation. 36
 — —, Nachweis mittels Chinablaunnährbodens. 228
 — —, Pathogenität. 31
 — —, Säurebildung. 32
 — —, gleichzeitiges Vorkommen mit *Bac. paratyphi*. 26
 — —, Wallbildung. 40
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, Wirkung von Chinosol. 94, 97, 98
 — —, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 — violaceus, Agglutination. 142
 — —, Komplementbindung. 145
 — —, Kulturelles. 129
 — —, Morphologisches. 129
 — —, Präzipitation. 144
Bacterium fulvum var., Vorkommen im Colon der Rinder. 305
 — psalterii n. sp., Vorkommen im Psalter der Rinder. 307
 — pseudotuberculosis rodentium var., Vorkommen im Psalter der Rinder. 304
 — turcosum var., Vorkommen im Psalter der Rinder. 305
 Bakterien, Biochemie. 240
 —, Degeneration u. Mutation, Beziehungen. 10
 —, Entwicklungshemmung. 425
 —, Färbungsanalytik. 240
 —, Gasbildung. 534
 —, gramnegative, Morphologie. 338
 —, Hülle. 113
 —, Kapsel. 113

Bakterien, Mutation.	1. 36	Entamoeba tetragena, Resistenz gegenüber	
—, —, Bedeutung des tier. Organismus.	9	äußeren Einflüssen.	399
—, Mutation u. Degeneration, Beziehungen.	10	—, Uebertragung durch Fliegen.	402
—, —, Technik zum Nachweise ders.	3	—, Wirkung von Emetin.	403
— der Typhus-Coli-Gruppe, Differential-		Entamöben des Menschen und ihre prak-	
diagnose durch das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$.	534	tische Bedeutung.	378
—, Vitalfärbung.	437	Enzyme der Milch.	167. 173
—, Vorkommen im Darne des Rindes.	291	Eosinophilie, besondere Arten im Blute	
—, — in der Milch.	168	einiger Vögel.	323
—, — im Psalter der Rinder.	291	Epitheliom der Harnblase, Würmer, Rolle	
—, Wirkung von Anilinfarbstoffen.	420.	derselben.	64
	457	— der Haut, Rolle der Milben.	64
—, — von Chinosol.	94	Färbung, Gram-, Theorie.	423
—, — von Farbstoffen.	420	—, Vital-, von Bakterien.	437
—, — auf gefärbte Nährböden.	319	—, — und Entwicklungshemmung.	420
Bakteriotropine.	207	—, —, und Zellpermeabilität.	429
Bakterizidine.	207	Färbungsanalytik einiger wichtiger Bak-	
Bilharzia, Geschwülste, Rolle bei denselben.	62	terienarten.	240
Biochemie der Bakterien.	240	Farbstoff, Anilin- s. Anilinfarbstoffe.	
Blut, Eosinophilie bei Vögeln.	323	—, Entfärbung durch Bac. paratyphi.	35
Blutalkaliagar Dieudonné zur Cholera-		—, — —, gaslosen.	35
diagnose, Modifikation.	103	—, — — typhi.	35
Blutkörperchen, rote, des Hammels, Kon-		—, Toxizität und Konstitution.	447
servierung.	542	— Wirkung auf Bakterien.	420
—, —, Wirkung von Chinosol.	100	Filaria haematia cameli, Beschreibung usw.	
—, —, — von Sublimat.	100	— loa, Beschreibung.	199
Chinablaunährboden Bitters zur Typhus-		— —, Infektion des Menschen.	410
diagnose.	228	Filariasis, Behandlung.	416
Chinosol zur Gewinnung keimfreier Lymphe.	86	Fische, Infektion mit Bac. septicaemiae	
—, Giftigkeit.	101	ranarum.	346
—, Hämolyse.	100	Fliegen, Ruhr-Verbreitung. *	402
—, Wirkung auf Bakterien.	94	Formaldehydinjektionen, Schutz gegen Milz-	
Cholera s. a. Vibrio cholerae.		brand bei Kaninchen.	327
—, Diagnose mittels Dieudonnés Blutalkali-		Formaldehyd zur Konservierung der roten	
agars, Modifikation.	103	Hammelblutkörperchen.	542
Clostridium sarcophysematos bovis s. Ba-		Forschungen, milchhygienische, Rückblicke	
cillus, Rauschbrand.		auf die letzten 12 Jahre.	165
Colon der Rinder, Bakterien in demselben.	291	Froschepizootie, durch Bac. septicaemiae	
Cyanochinmethode.	421	ranarum verursacht.	343
Cyanosin zur Bakterienfärbung.	421	Gas, Bildung durch Bac. paratyphi. 25. 32.	
Cysticercus fasciolaris, Geschwülste, Rolle		—, — — typhi.	32
bei denselben.	62	—, — durch Bakterien.	534
Darm der Rinder, Bakterien in demselben.	291	Gasverhältnis $H_2 : CO_2$, ein Differential-	
Degeneration bei Bakterien und Mutation,		diagnosticum bei Typhus-coli ähnlichen	
Beziehungen.	10	Bakterien.	534
Desinfektion mit Anilinfarbstoffen.	456	Geschwülste, Acari, Rolle in der Aetiologie.	
— von tuberkul. Auswurf mit Phobrol.	332	—, Bilharzia, Rolle derselben.	62
Desinfektionskraft, Bestimmungsmethode.	331	—, Cysticercus fasciolaris, Rolle desselben.	62
Desinfektionsvorgänge, halbspezifische.	420	—, Helminthen, Rolle in der Aetiologie.	59. 54
Desinfizientien, Wirkung auf Rauschbrand-		—, Kachexie, Wassermannsche Reaktion	
bacillen.	155	bei denselben.	331
Diphtherie s. a. Bacillus diphtheriae.		—, pflanzliche, durch Heterodera verursacht.	64
Eierstock, Karzinom, Tarsonemus in dem-		—, —, durch Phytoptus verursacht.	63
selben.	63	—, Tarsonemus, Rolle desselben.	63
Emetin, Wirkung auf Entamoeba tetragena.	403	Gram-Färbung, Theorie.	423
Endotoxin, Eigenschaften.	48	Hämolyse durch Chinosol.	100
Entamoeba coli, Entwicklung.	379	— durch Sublimat.	100
— tetragena, Entwicklung.	383	Halter für Ratten und Mäuse.	254
		Hammelblutkörperchen, rote, Konservie-	
		rung.	542

- Harnblase, Epitheliom, Rolle der Würmer. 64
- Haut, Epitheliom, Rolle der Milben. 64
- Helminthen und Geschwulstetiologie. 59. 64
- Heterodera, pflanzliche Geschwülste, Ursache derselben. 64
- Hornhautentzündung, durch Tryp. dromedarii verursacht. 184
- Hühner, Eosinophilie. 323
- Hüllen bei Bakterien. 113
- Hunde, Infektion mit *Bac. septicaemiae ranarum*. 346
- Hygiene, Milch-, Rückblicke auf die letzten 12 Jahre. 165
- Immunisierung mit Alkaloiden. 225
- mit Morphin. 226
- mit Strychnin. 225
- gegen seuchenhaftes Verwerfen bei Stuten. 376
- Insekten, Uebertragung von *Schizotrypanum cruzi*. 205
- Kachexie, Geschwulst-, Wassermannsche Reaktion. 331
- Kamel, *Filaria haematica cameli* in demselben. 199
- , *Strongylus capillaris* in demselben. 201
- Kaninchen, Infektion mit *Bac. septicaemiae ranarum*. 346
- , Schutz gegen Milzbrand durch Formaldehydinjektionen. 327
- Kapsel bei Bakterien. 113
- Karzinom, Eierstocks-, *Tarsonemus*, Rolle desselben. 63
- , Mamma-, Rolle der Milben. 65
- Keratitis s. Hornhautentzündung.
- Körperchen, Kurloffsche, Natur derselben. 189
- Kohlenwasserstoffe zur Ausschüttelung der Diphtheriebakterien. 233
- Kokken, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 306
- Komplementbindung mit Alkaloiden. 225
- mit *Bac. membranaceus amethystinus*. 145
- mit *Bacillus* der Subtilis-Gruppe. 508
- mit *Bac. violaceus*. 145
- mit Morphin. 226
- bei Scharlach. 520
- mit Strychnin. 226
- bei Tuberkulose. 511
- Wassermann in der pathol. Anatomie. 329
- — bei Geschwulstkachexie. 331
- — bei Sepsis. 331
- — bei Tuberkulose. 331
- Konservierung der roten Hammelblutkörperchen. 542
- Krebse, Infektion mit *Bac. septicaemiae ranarum*. 346
- Kurloffs Körperchen, Natur derselben. 189
- Lauge, Wirkung auf Rauschbrandbacillen. 157
- Leber, Tauben-, *Trichomonas* aus derselben. 184
- Leiche, Wassermannsche Reaktion an derselben. 329
- Leucocytozoon Ziemanni, Entwicklung. 66
- Leukozytenprobe der Milch. 168
- Lympe, keimfreie, Gewinnung durch Chinosolzusatz. 86
- Mäuse-Halter. 254
- Mäuse, Infektion mit *Bac. septicaemiae ranarum*. 346
- Mammakarzinom, Rolle der Milben. 65
- Meerschweinchen, Infektion mit *Bac. septicaem. ranarum*. 345
- Meerschweinchenpest, durch filtrierbares Virus verursacht. 257
- Meerschweinchenseuche, durch filtrierbares Virus verursacht. 257
- Meiostagminreaktion bei Rattensarkom. 80
- Micrococcus aurantiacus*, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 306
- *candicans*, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 307
- *psalterii* n. sp., Vorkommen im Psalter der Rinder. 308
- pyogenes, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
- Microspira* s. *Vibrio*.
- Mikrokokken, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 306
- Mikroorganismen, aërobe, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 291
- Milben und Geschwulstetiologie. 59. 64
- Milch, Bakteriologie. 168
- , Milch, Enzyme. 167. 173
- -Hygiene, Rückblicke auf die letzten 12 Jahre. 165
- , Leukozytenprobe. 168
- , Schardingers Reaktion. 173
- Sterilisierung. 166
- Milzbrand s. a. *Bacillus anthracis*.
- , Diagnose mittels Thermopräzipitinreaktion. 85
- , Schutz gegen denselben durch Formaldehydinjektionen. 327
- Morphin, Antikörperbildung. 226
- , Komplementbindung. 226
- Mutation bei *Bac. paratyphi*. 36
- — —, gaslosen. 36
- bei *Bac. typhi*. 36
- bei Bakterien. 1. 36
- —, Bedeutung des tierischen Organismus. 9
- — und Degeneration, Beziehungen. 10
- —, Technik zum Nachweise derselben. 3
- Nährböden, gefärbte, Wirkung von Bakterien. 319
- Natronlauge, Wirkung auf Rauschbrandbacillen. 157
- Notoedres, Rolle beim Hautepitheliom. 65
- Paratyphus s. a. *Bacillus paratyphi*.
- Permeabilität, Zell-, und Vitalfärbung. 429
- Pest s. a. *Bacillus pestis*.
- , Diagnose mittels Präzipitinreaktion. 69
- , Meerschweinchen-, durch filtrierbares Virus verursacht. 257
- Pferde, Verwerfen, seuchenhaftes, Bekämpfung. 376
- , —, —, Ursache desselben. 349
- Pflanzengeschwülste, durch *Heterodera* verursacht. 64

- Pflanzengeschwülste, durch Phytoptus verursacht. 63
 Phobrol zur Desinfektion tuberkulösen Auswurfes. 332
 Phytoptus, pflanzliche Geschwülste, Ursache derselben. 63
 Präzipitation des Bac. membranaceus amethystinus. 144
 — des Bac. violaceus. 144
 — zur Schweinerotlaufdiagnose. 523
 Präzipitinreaktion zur Pestdiagnose. 69
 Proteus vulgaris, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — — — auf gefärbte Nährböden. 320
 Psalter der Rinder, Bakterien in demselben. 291
 Pseudolyssa. 286
 Pseudomonas fluorescens liquefaciens, Wirkung auf gefärbte Nährböden. 320
 Rattenhalter. 254
 Rattensarkom, Meistagminreaktion. 80
 Rauschbrandbacillus s. Bacillus, Rauschbrand-.
 Reaktion, Wassermannsche s. Komplementbindung Wassermann.
 Rinder, Darm, Bakterien in demselben. 291
 —, Psalter, Bakterien in demselben. 291
 Rinder-Tuberkulose, Beziehung zu menschlicher. 42
 Rotlauf, Diagnose mittels Präzipitation. 523
 —, — mittels Thermopräzipitinreaktion. 85
 Rotz s. a. Bacillus mallei.
 Ruhr s. a. Bacillus dysenteriae.
 —, Amöben-. 384
 —, —, Diagnose. 396
 —, —, Verbreitung durch Fliegen. 402
 Säure, Bildung durch Bac. paratyphi. 32
 —, — durch Bac. paratyphi, gaslosen. 32
 —, — durch Bac. typhi. 32
 Säurefestigkeit eines Bacillus der Subtilis-Gruppe. 503
 Sarcina lutea, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — tetragena, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 Sarkom, Ratten-, Meistagminreaktion. 80
 Scharingers Reaktion in der Milch. 173
 Scharlach, Komplementbindung. 520
 Schizotrypanum cruzi, Passage durch Tiere. 202
 — —, Infektionsversuche durch Insekten. 205
 Schutzstoffe, antibakterielle, Antigene derselben. 207
 Schweinerotlauf s. Rotlauf.
 Sepsis, Wassermannsche Reaktion. 331
 Serumbehandlung des seuchenhaften Verwerfens bei Stuten. 376
 Serumdignose der Pest. 69
 — des Rotlaufes. 523
 — des Sarkoms (Ratten-). 80
 — des Scharlachs. 520
 — der Tuberkulose. 511
 Serumfestigkeit des Bac. dysenteriae. 515
 Seuche, Meerschweinchen-, durch filtrierbares Virus verursacht. 257
 Staphylococcus pyogenes albus, Wirkung von Chinosol. 94
 — — aureus, Färbungsanalytik. 242
 — — —, Hülle. 118
 — — —, Wirkung von Chinosol. 94. 96—99
 Steinkauz, Leucocytozoon ziemanni in demselben. 66
 Sterilisierung der Milch. 166
 Streptococcus pyogenes, Färbung. 245
 — —, Wirkung von Chinosol. 94
 Streptokokken, Vorkommen im Psalter und Colon der Rinder. 306
 Strongylus capillaris des Kamels, Beschreibung. 201
 Strychnin, Antikörperbildung. 226
 —, Komplementbindung. 226
 Stuten, Verwerfen, seuchenhaftes, Bekämpfung. 376
 —, —, seuchenhaftes, Immunisierung. 376
 —, —, —, Ursache desselben. 349
 Sublimat, Hämolyse. 100
 —, Wirkung auf Rauschbrandbacillen. 155
 Syphilis, Wassermannsche Reaktion in der pathologischen Anatomie. 329
 Tarbaschin, Eosinophilie. 323
 Tarsonemus, Geschwülste, Rolle bei demselben. 63
 Tauben, Infektion mit Bac. septicaemiae ranarum. 346
 — Leber, Trichomonas aus demselben. 184
 Thermopräzipitinreaktion zur Milzbranddiagnose. 85
 — zur Rotlaufdiagnose. 85
 Toluol zur Konservierung der roten Hammelblutkörperchen. 542
 Toxin des Bac. anthracis. 44
 — des Bac. septicaemiae ranarum. 346
 —, Eigenschaften. 48
 —, Endo-, Eigenschaften. 48
 Trichomonas aus der Taubenleber. 184
 Trypanosoma dromedarii, Entwicklung. 183
 — —, Pathogenität. 182
 Tuberkulose s. a. Bacillus tuberculosis.
 —, Auswurf, Desinfektion mit Phobrol. 332
 —, Komplementbindung. 511
 —, menschliche, Beziehung zur Rindertuberkulose. 42
 —, Rinder-, Beziehung zu menschlicher. 42
 —, Wassermannsche Reaktion. 331
 Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
 — —, Diagnose mittels Chinablaunährbodens. 228
 Vaccination gegen seuchenhaftes Verwerfen bei Stuten. 377
 Verwerfen, seuchenhaftes, bei Stuten. Bekämpfung. 376
 —, —, bei Stuten, Immunisierung. 376
 —, —, bei Stuten, Ursache desselben. 349
 Vibrio cholerae s. a. Cholera.
 — —, Hülle. 118
 — —, Nachweis mittels Dieudonné's Blutalkaliagar, Modifikation. 103
 — —, Wirkung von Anilinfarbstoffen. 457
 — —, — von Chinosol. 94

<i>Vibrio finkleri</i> , Wirkung auf gefärbte Nährböden.	320	Vitalfärbung, Entwicklungshemmung.	420
— <i>metschnikovi</i> , Wirkung von Chinosol.	95	— und Zellpermeabilität.	429
— —, Wirkung auf gefärbte Nährböden.	320	Vögel, Eosinophilie im Blute derselben.	323
— <i>milleri</i> , Wirkung auf gefärbte Nährböden.	320	Wall, Bildung bei <i>Bac. paratyphi</i> .	40
— <i>schuylkilliensis</i> , Wirkung auf gefärbte Nährböden.	320	—, — bei <i>Bac. paratyphi</i> , gaslosem.	40
Vitalfärbung von Bakterien.	437	—, — bei <i>Bac. typhi</i> .	40
		Wassermanns Reaktion s. Komplementbindung Wassermann.	
		Würmer und Geschwulstetiologie.	59. 64
		Wut, Pseudo-.	286

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Adler, Eosinophilie im Blute.	324	Halter für Mäuse und Ratten.	255
<i>Bacillus anthracis</i> , Hülle. (Taf. I, II.)	128	Harnblase, Epitheliom. (Taf. II.)	64
— <i>coli</i> , Färbung. (Taf.)	254	—, Sarkom. (Taf. I.)	64
— —, Morphol.	340, 341.	Haut, Epitheliom. (Taf. II.)	64
— <i>enteritidis</i> Gärtner, Kulturelles.	38	Heterodera aus pflanzlicher Geschwulst. (Taf. II.)	64
— <i>mallei</i> , Kulturelles und Morphologisches. (Taf. I—III.)	284	Hühner, Eosinophilie im Blute.	324
— <i>membranaceus amethystinus</i> , Kulturelles. (Taf.)	136. 137. 146	Hüllen bei Bakterien. (Taf. I, II.)	128
— <i>paratyphi</i> , Kulturelles.	26, 34, 37—41	Kapseln bei Bakterien. (Taf. I, II.)	128
— —, Wallbildung.	41	Karzinom, Mamma-. (Taf. II.)	64
— <i>septicaemiae ranarum</i> n. sp., Morphol. (Taf., Fig. 1.)	348	Körperchen, Kurloffsche. (Taf. I, II.)	198
— — n. sp., Sterletinfektion. (Taf., Fig. 1.)	348	Kurloff-Körperchen. (Taf. I, II.)	198
— Shiga, Morphol.	342	Leucocytozoon <i>ziemanni</i> , Entwicklung. (Taf.)	69
— <i>subtilis</i> , Hülle. (Taf. I, II.)	128	Mäuse-Halter.	255
— <i>typhi</i> , Hülle. (Taf. I, II.)	128	Mamma-Karzinom. (Taf. II.)	64
— —, Kulturelles.	26, 34, 37—41	Meerschweinchen-Pest, Haltung der Tiere.	258
— —, Morphol.	340, 341	Notoedres. (Taf. II.)	64
— —, Wallbildung.	41	Pest, Präzipitinreaktion.	75
Bakterien, Kapseln. (Taf. I, II.)	128	Phytoptus. (Taf. I.)	64
Bilharzia-Eier. (Taf. I.)	64	— und Pflanzengeschwülste. (Taf. I.)	64
<i>Cysticercus fasciolaris</i> , Kalkkörper. (Taf. I.)	64	Präzipitinreaktion zur Pestdiagnose.	75
Emetin, Wirkung auf <i>Entamoeba tetragena</i> .	396	Ratten-Halter.	255
<i>Entamoeba coli</i> , Morphol. (Taf. I.)	408	Rotz, mikroskopische Präparate. (Taf. II, III.)	285
— <i>tetragena</i> , Morphol. (Taf. I, II.)	388. 394. 409.	Sarkom und <i>Cysticercus</i> -Kalkkörper. (Taf. I.)	64
— —, Wirkung von Emetin.	336	Schizotrypanum <i>cruzi</i> , Morphol. (Taf.)	206
Eosinophilie bei Adler.	324	Staphylococcus <i>pyogenes aureus</i> , Färbung. (Taf.)	254
Eosinophilie beim Huhne.	324	Staphylokokken, Hülle. (Taf. I, II.)	128
Epitheliom. (Taf. II.)	64	Sterlet, Infektion mit <i>Bac. septicaemiae ranarum</i> . (Taf., Fig. 1.)	348
<i>Filaria loa</i> , Abbildung	412	Streptococcus <i>pyogenes</i> , Färbung. (Taf.)	254
Geschwülste, Acari und Helminthen, Rolle derselben. (Taf. I, II.)	64	Tarsonemus. (Taf. II.)	64
—, pflanzliche, durch Phytoptus verursacht. (Taf. I.)	64	Vibrio <i>cholerae</i> , Hülle. (Taf. I, II.)	128
—, —, und Würmer. (Taf. II.)	64	Würmer und pflanzliche Geschwülste. (Taf. II.)	64

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4357

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Digitized by

Google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA

589.05CE

C001

ZENTRALBLATT FÜR BAKTERIOLOGIE, PARASITE

71 1913



3 0112 009814705